

«EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN
PRECOZ SOBRE LA CAPACIDAD
DE APRENDIZAJE EN LA RATA»

M. SANCHEZ TURET, F. GONZALEZ SASTRE, J. SABATER TOBELLA

• Trabajo presentado en la Quinta Reunión Anual de la European Association for Behaviour Therapy. 21-25 de septiembre de 1975. Palma de Mallorca.

Existe amplia evidencia de que el daño que la desnutrición precoz causa en la estructura encefálica trae repercusiones no tan solo físicas y neurológicas, sino que influye también sobre la actividad funcional de sistemas de un nivel superior de organización. Caldwell y Churchill¹ citan déficits en la capacidad de aprendizaje en ratas adultas, que durante su gestación habían estado sometidas a una malnutrición proteica. Análogos resultados hallaron Barnes y col.,² Cowley y Griesel³⁻⁵ señalan que la desnutrición precoz produce en las ratas, efectos permanentes sobre su capacidad de aprendizaje, que pueden estudiarse en un test de laberinto tipo «lineal». Deficiencias de aprendizaje en este tipo de test han sido descritos por diversos autores⁶⁻⁸ utilizando ratas que habían sido desnutridas durante el período prenatal y/o de lactancia.

En un reciente trabajo Hsueh y col.⁹ sobre ratas afectas de desnutrición precoz, demuestran que no existe relación entre el desarrollo corporal y la capacidad de aprendizaje, ya que mientras el primero se muestra reversible con la rehabilitación nutricia, no ocurre así en el segundo. Tales resultados concuerdan con los hallados a nivel humano por Graham y col.¹⁰ en un estudio sobre niños peruanos afectos de desnutrición. Semejantes hallazgos son citados en trabajos sobre primates por Strobel y col.¹¹ y por Hill y Riopelle¹² entre otros.

Se había ya demostrado hace ya más de 50 años¹³ que la desnutrición llevada a cabo en ratas poco después del destete, traía como consecuencia una reducción del peso encefálico, la cual persistía incluso después de la rehabilitación nutricia del animal. Tales resultados han sido no tan solo confirmados^{14, 15} sino que incluso han sido ampliados^{16, 17} para demostrar que se obtenían efectos más acusados y permanentes si los animales eran desnutridos desde el nacimiento al destete (21 días de edad en las ratas), o incluso también durante su gestación^{18, 19}.

González Sastre y col.^{24, 25} y Smart y col.²⁰ estudian también los efectos de la desnutrición precoz sobre la concentración de ADN (como índice del número de células) utilizando también ratas como animal de experimentación. Sus resultados indican claramente que existe una disminución en el número total de células en todas las regiones encefálicas estudiadas. Así pues, tal como habían expuesto ya con anterioridad Dobbing y Sands,²¹ los resultados definitivos consisten en un encéfalo desproporcionadamente pequeño (microcefalia) con una desproporcionada reducción del número de células en el mismo.

En esta línea de investigación hemos efectuado una serie de trabajos a fin de estudiar los efectos de la desnutrición precoz sobre el SNC de la rata, centrándonos en el estudio de las alteraciones funcionales de la actividad ner-

viosa superior y concretamente, en las modificaciones de la capacidad de aprendizaje. Tales trabajos se han efectuado en el Departamento de Neuroquímica del Instituto Provincial de Bioquímica, Fundación Juan March, de la Diputación Provincial de Barcelona. Los investigadores de dicho Departamento han efectuado a su vez, determinaciones de parámetros bioquímicos e histológicos en las mismas camadas de animales empleados en nuestros experimentos psicológicos, lo cual posibilita el estudiar las correlaciones existentes entre tales criterios y la actividad funcional de sistemas de un nivel superior de organización.

MATERIAL Y MÉTODOS

Como animales de experimentación se han utilizado ratas macho Sprague Dawley (Charles River Laboratories, France), obtenidas en nuestro estabulario por cruce entre ratas hembras y machos de 200-225 gr. y 325-350 gr. de peso respectivamente.

La desnutrición se ha llevado a cabo durante las épocas de gestación y lactancia. Durante la gestación se suministraron 28 gr. de dieta al grupo de madres controles y 14 gr. al grupos experimental, mientras que durante el período de lactancia las cantidades administradas fueron 42 gr. y 21 gr. respectivamente. La mortalidad con este tipo de desnutrición, ascendió prácticamente al 50 %.

El grado de desnutrición obtenido se refleja en los incrementos de peso. En el presente trabajo la media de los incrementos ponderales durante las tres semanas del período de lactancia fueron de 0,65 gr./día, mientras que en el grupo control, alcanzó el valor de 1,28 gr./día.

La alimentación ha sido «Panlab», siguiendo las normas del National Research Council.

Cuando las ratas tenían unas 15 semanas de edad, es decir, después de un largo período de rehabilitación nutricia y cuando podían considerarse totalmente adultas, se llevaron a término las pruebas de aprendizaje.

Para estudiar el aprendizaje se utilizó el Laberinto lineal, utilizando refuerzo positivo (comida) y colocando «vías ciegas» para poder contabilizar los errores.

Cuarenta y ocho horas antes de iniciarse los ejercicios de aprendizaje, todas las ratas fueron pesadas y privadas de alimento.

Se efectuaron al principio unas sesiones de pre-condicionamiento (shaping) en las que no se utilizaron vías ciegas.

En cada sesión se practicaron 3 tests individuales de una duración máxima de 3 minutos, espaciados por un intervalo de 20 segundos.

Por lo que respecta a los errores se contabilizó un máximo de 3 puntos por cada vía ciega, según el siguiente criterio:

Si el animal giraba su cabeza hacia la vía ciega = 1 punto.

Si el animal iniciaba el trayecto hacia la vía ciega = 2 puntos.

Si el animal llegaba hasta el fondo de la vía ciega = 3 puntos.

Se consideró que un animal estaba condicionado cuando comía el 100 % del alimento que hallaba al final del Laberinto y su tiempo medio de recorrido era igual o menor a 25 segundos.

Mientras duró el experimento la dieta suministrada a las ratas era de 20 gr. diarios.

Se construyeron 2 gráficas de aprendizaje, una en la que se tenía en cuenta el «tiempo» en que se efectuaba el recorrido, y la otra en la que se consideraban el «número de errores» que el animal efectuaba en el mismo.

Se llevó a término un Análisis de la Varianza, a fin de calcular si las diferencias obtenidas entre los animales control y desnutridos alcanzaban significación estadística.

RESULTADOS

(Ver tablas 1 y 2 y figuras 1 y 2)

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo confirman la existencia de un aprendizaje significativo tanto en el grupo control como en el desnutrido (F de Fisher-Snedecor = 8,107 con 6 y 126 grados de libertad, con respecto a la variable «tiempo de recorrido» $p < 0,001$; y $F = 11,05$ con 6 y 126 grados de libertad $p < 0,001$ con respecto a la variable «n.º de errores»).

Debemos señalar, sin embargo, algunos aspectos importantes que nos diferencian a ambos grupos en cuanto a su mayor o menor capacidad de aprendizaje:

- Los tiempos de ejecución del grupo de ratas desnutridas son constantemente más altos que los del grupo control, siendo tales diferencias estadísticamente muy significativas ($F = 14,70$ con 1 y 126 g. l. $p < 0,005$).
- El promedio del número de errores del grupo de ratas desnutridas es constantemente más alto que el del grupo control, siendo tales diferencias estadísticamente muy significativas ($F = 21,31$ con 1 y 126 g. l. $p < 0,001$).
- Los animales desnutridos precisan un promedio de 10 días para alcanzar los criterios de aprendizaje establecidos, mientras que los animales control, alcanzaron dichos criterios en un promedio de 7 días.
- La curva que describe el progresivo aprendizaje llevado a cabo por los animales es mucho más irregular en el grupo desnutrido que en el control, como puede observarse en las gráficas adjuntas (ver figura 1 y 2).

En resumen, el análisis de la varianza efectuado permite concluir que, aunque se registra aprendizaje en ambos grupos a lo largo del tiempo, las di-

ferencias entre el grupo control y el desnutrido son significativas tanto con respecto al factor «tiempo de recorrido» como con respecto al factor «número de errores».

De los resultados obtenidos con respecto a los datos relativos al «número de errores» se concluye en que dicha variable discrimina más que la correspondiente al «tiempo de recorrido» es decir, que resulta una medida más sensible del aprendizaje con refuerzo positivo.

Por otra parte debemos señalar, que las diferencias en el aprendizaje obtenidas tomando como medida el «tiempo de recorrido», deben ser consideradas con cierta cautela, ya que existen factores ajenos al aprendizaje, tales como la coordinación motora y la actividad exploratoria, que pueden influir sobre tal medida y que se hallan a su vez afectadas por la desnutrición precoz, tal como hemos demostrado recientemente²⁶ confirmando los hallazgos de otros autores.^{22, 23}

Resumiendo, y a modo de correlación químico-funcional, debe destacarse que la recuperación detectada por criterios químicos no se acompaña de una recuperación funcional. Las experiencias valorativas del aprendizaje indican que el funcionalismo del sistema nervioso permanece alterado aún después del período de rehabilitación y por tanto, no existe una correlación entre criterios químicos y funcionales. Las experiencias multidisciplinarias constituyen todavía una novedad y no existen datos suficientes que permitan obtener conclusiones al respecto. Sin embargo, podría apuntarse como explicación al fenómeno descrito que

- los estudios funcionales constituyen un criterio más sensible para la detección de las alteraciones producidas por la desnutrición precoz
- la recuperación funcional sigue cronológicamente a la recuperación química y que la investigación del aprendizaje en períodos todavía posteriores pudieran evidenciar una total recuperación
- las alteraciones químicas durante el período crítico de adquisición de patrones funcionales, causan alteraciones funcionales permanentes y aunque aquellas se recuperen, éstas últimas permanecen alteradas.

Nosotros, nos inclinamos por esta última explicación.

Las alteraciones funcionales tardías por efecto de la desnutrición precoz moderada, serían causadas por la alteración en la adquisición de los patrones funcionales debida a los graves efectos sobre la maduración química del sistema nervioso a lo largo de los primeros períodos de vida extrauterina del animal, aunque no puede descartarse el efecto de las posibles interacciones debidas a alteraciones del comportamiento materno a través, probablemente de un mecanismo similar, problema actualmente en vías de investigación por nuestro grupo.

Por último, quisiéramos destacar la importancia de este problema por las implicaciones en el campo de la Neuropsicología clínica que se desprenden del mismo, implicaciones que los especialistas del tema sabrán sin duda sacar, con mucha mayor facilidad y precisión.

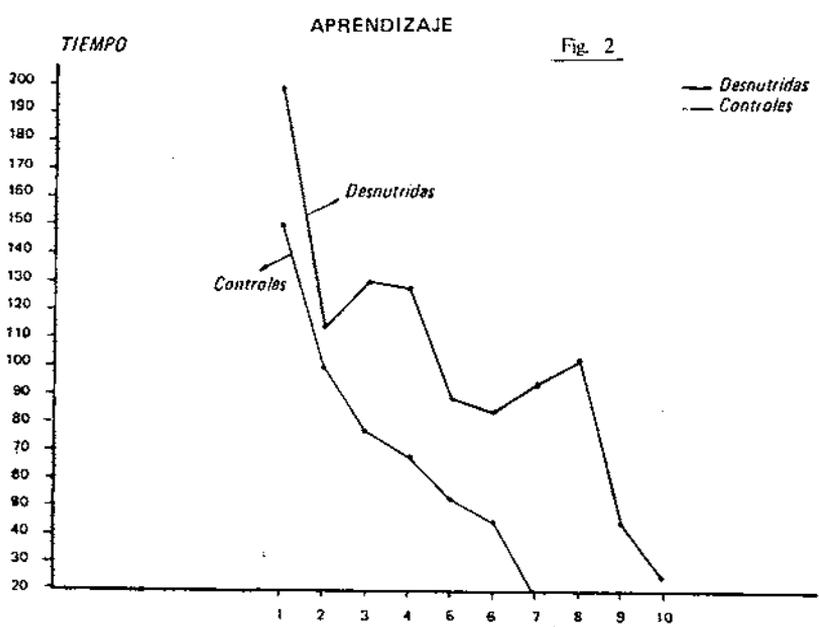
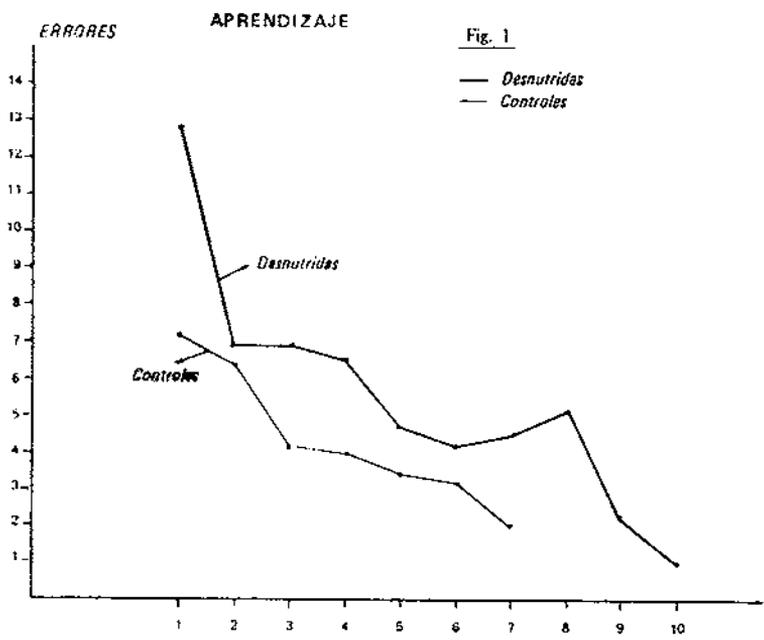
TABLA 1. Aprendizaje con refuerzo positivo

Grupo control ($n = 11$)

| Días | Tiempo | Errores |
|------|--|-------------------------------------|
| 1 | $\bar{X} = 151,31$ $\sigma = 88,52$ | $\bar{X} = 7,20$ $\sigma = 2,88$ |
| 2 | $\bar{X} = 101,32$ $\sigma = 53,18$ | $\bar{X} = 6,45$ $\sigma = 2,31$ |
| 3 | $\bar{X} = 77,51$ $\sigma = 64,68$ | $\bar{X} = 4,20$ $\sigma = 1,93$ |
| 4 | $\bar{X} = 68,20$ $\sigma = 41,93$ | $\bar{X} = 4,02$ $\sigma = 1,39$ |
| 5 | $\bar{X} = 53,92$ $\sigma = 37,54$ | $\bar{X} = 3,47$ $\sigma = 2,01$ |
| 6 | $\bar{X} = 45,98$ $\sigma = 21,45$ | $\bar{X} = 3,24$ $\sigma = 1,73$ |
| 7 | $\bar{X} = 19,13$ $\sigma = 7,15$ | $\bar{X} = 2,09$ $\sigma = 1,90$ |

TABLA 2. *Aprendizaje con refuerzo positivo**Grupo desnutrido (n = 10)*

| <i>Días</i> | <i>Tiempo</i> | <i>Errores</i> |
|-------------|--------------------|-------------------|
| 1 | $\bar{X} = 198,54$ | $\bar{X} = 12,83$ |
| | $\sigma = 76,81$ | $\sigma = 4,70$ |
| 2 | $\bar{X} = 114,95$ | $\bar{X} = 6,95$ |
| | $\sigma = 80,31$ | $\sigma = 2,32$ |
| 3 | $\bar{X} = 130,70$ | $\bar{X} = 6,95$ |
| | $\sigma = 74,48$ | $\sigma = 2,03$ |
| 4 | $\bar{X} = 123,85$ | $\bar{X} = 6,55$ |
| | $\sigma = 89,78$ | $\sigma = 4,20$ |
| 5 | $\bar{X} = 89,70$ | $\bar{X} = 4,75$ |
| | $\sigma = 78,39$ | $\sigma = 4,69$ |
| 6 | $\bar{X} = 84,20$ | $\bar{X} = 4,20$ |
| | $\sigma = 64,76$ | $\sigma = 2,52$ |
| 7 | $\bar{X} = 94,90$ | $\bar{X} = 4,55$ |
| | $\sigma = 58,56$ | $\sigma = 2,15$ |
| 8 | $\bar{X} = 103,30$ | $\bar{X} = 5,20$ |
| | $\sigma = 66,84$ | $\sigma = 2,72$ |
| 9 | $\bar{X} = 44,94$ | $\bar{X} = 2,20$ |
| | $\sigma = 27,00$ | $\sigma = 1,49$ |
| 10 | $\bar{X} = 25,48$ | $\bar{X} = 1,03$ |
| | $\sigma = 15,81$ | $\sigma = 1,24$ |



RESUMEN

En el presente trabajo se estudian los efectos de la desnutrición precoz sobre el SNC de la rata y aunque está centrado en el estudio de las alteraciones funcionales de la actividad nerviosa superior, concretamente en las modificaciones de la capacidad de aprendizaje con refuerzo positivo, los autores intentan extraer de sus resultados una correlación químico-funcional. Así, después de un largo período de rehabilitación nutricia, la recuperación detectada por criterios químicos no se acompaña de una recuperación funcional. Se trata pues de un trabajo netamente interdisciplinar y que forma parte de una línea de investigación en la que los autores vienen trabajando desde hace varios años.

RESUME

Dans ce travail on étudie les effets de la sous-nutrition précoce sur le SNC du rat et bien qu'il soit centré sur l'étude des altérations fonctionnelles de l'activité nerveuse supérieure, concrètement sur les modifications de la faculté d'apprentissage avec renfort positif, les auteurs essaient d'extraire de leurs résultats une corrélation chimico-fonctionnelle. Ainsi, après une longue période de réhabilitation alimentaire, la récupération détectée par des critères chimiques ne s'accompagne pas d'une récupération fonctionnelle. Il s'agit d'un travail nettement interdisciplinaire qui fait partie d'une ligne de recherche sur laquelle les auteurs travaillent depuis plusieurs années.

SUMMARY

In this work are studied the effects of early undernutrition over the CNS in the rat, and although it is centered on the functional aspects of the superior nervous activity concretely the modifications of learning ability with positive reinforcement, the authors, are trying to extract out of the results a chemical-functional correlation. So, after a long period of nutritional rehabilitation, the recuperation detected through chemical criterions is not followed by a functional recuperation. It is consequently an interdisciplinary work which is part of a line of research over which the authors are working since several years ago.

BIBLIOGRAFÍA

1. CALDWELL, D. F. y CHURCHILL, J. A.: «Learning ability in the progeny of rats admi-

- nistered a protein deficient diet during the second half of gestation». *Neurology*, 17:95 (1967).
2. BARNES, R. H., CUNNOLD, S. R., ZIMMERMANN, R. R., SIMMONS, H., McLEOD, R. B. y KROOK, L.: «Influence of nutritional deprivation in early life on learning behavior of rats as measured by performance in a water maze». *J. Nutr.*, 89:399-410 (1966).
 3. COWLEY, J. J. y GRIESEL, R. D.: «Pre and postnatal effects of a low protein diet on the behavior of the white rat». *Psychol. Africana*, 9:216 (1962).
 4. COWLEY, J. J. y GRIESEL, R. D.: «Some effects of a low protein diet on a first filial generation of white rats». *J. Genet. Psychol.*, 95:187 (1959).
 5. COWLEY, J. J., GRIESEL, R. D.: «The development of second-generation lowprotein rats». *J. Genet. Psychol.*, 103:233 (1963).
 6. ANDERSON, J. E. y SMITH, A. H.: «The effect of quantitative and qualitative stunting upon maze in the white rat». *J. Comp. Psychol.*, 6:337-359 (1926).
 7. ANDERSON, J. E. y SMITH, A. H.: «The relation of performance to age and nutritive condition in the white rat». *J. Comp. Psychol.*, 13:409-446 (1932).
 8. BIEL, W. C.: «The effect of early inanition upon maze learning in the albino rat». *Comp. Psychol. Monogr.*, 15, N.º 2 (1938).
 9. HSUEH, A. M., SIMONSON, M., KELLUM, M. J. y CHOW, B. F.: «Perinatal under nutrition and the metabolic on behavioral development of the offspring». *Nutrition Reports International*, 7:437-445 (1973).
 10. GRAHAM, G. G. y ADRIANZEN, T. B.: «Late "catch-up" growth after severe infantile malnutrition». *John Hopkins Med. J.*, 131:204 (1972).
 11. STROBEL, D. A., GEIST, CH. R., ZIMMERMANN, R. R. y LINDVIG, E. K.: «Cue-lo-cus-A factor in the behavioral deficiency of the developing proteinmalnourished monkey (Cacaca Mulatt)». *Behavioral Biology*, 10:473-484 (1974).
 12. HILL, CH. W. y RIOPELLE, A. J.: «Protein deprivation in primates: III. Cage activities and chain-pulling behavior of adult rhesus monkeys maintained on low-protein diets». *Perceptual and motor Skills*, 38:1003-1011 (1974).
 13. JACKSON, C. M. y STEWART, C. A.: «The effects of inanition on the ultimate size of the body and of the various organs in the albino rat». *J. Exper. Zool.*, 30:97 (1920).
 14. DOBBING, J.: «The influence of early nutrition on the development and myelination of the brains». *Proc. Roy. Soc.*, 159:503, London, 1964.
 15. DOBBING, J. y WIDDOWSON, E. M.: «The effect of undernutrition and subsequent rehabilitation on myelination of rat brain as measured by its composition». *Brain Res.*, 88:357 (1965).
 16. WIDDOWSON, E. M.: «Nutrition deprivation in psychobiological development: studies in animals». Pan American Health Organization, *Scientific Publ.* N.º 134:27 (1966).
 17. WIDDOWSON, E. M., DICKERSON, J. W. y McCANCE, R. A.: «Severe undernutrition in growing and adult animals: IV. The impact of severe undernutrition on the chemical composition of the soft tissues of the pig». *Brit. J. Nutr.*, 13:457 (1960).
 18. WIDDOWSON, E. M. y McCANCE, R. A.: «Some effects of accelerating growth: I. General somatic development». *Proc. Roy. Soc.*, 152:88, London, S.B., 1960.
 19. WINICK, M.: «Cellular growth in intrauterine malnutrition». *Pediat. Clin. N. Amer.*, 17:69-78 (1970).
 20. SMART, J. L., DOBBING, J., ADIARD, B. P. F., LYNCH, A. y SANDS, J.: «Vulnerability of developing brain: relative effects of growth restriction during the fetal and suckling periods on behavior and brain composition of adult rats». *J. Nutr.*, 103:1327-1338 (1973).
 21. DOBBING, J. y SANDS, J.: «Vulnerability of developing brain. IX. The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth spurt». *Biol. Neonate*, 19:363-378 (1971).
 22. SMART, J. L. y DOBBING, J.: «Vulnerability of developing brain. Part 2. Effect of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behavior in the rat». *Brain Res.*, 28:85-95 (1971).
 23. FRANKOVA, S. y BARNES, R. H.: «Influence of malnutrition in early life on exploratory behavior of rats». *J. Nutr.*, 96:477-484 (1968).
 24. GONZÁLEZ SASTRE, F., RODÉS, M. y SABATER, J.: *Arch. Neurobiol.*, 38:23 (1975).
 25. GONZÁLEZ SASTRE, F., RODÉS, M. y SABATER, J.: *Arch. Neurobiol.* (en prensa).
 26. SÁNCHEZ TURET, M.: *Efectos de la desnutrición precoz sobre el SNC de la rata: alteraciones en la maduración neurológica y en el funcionalismo de la actividad nerviosa superior. Tesis Doctoral. Fac. Cien. Univ. Autónoia de Barcelona, 1975.*

