

Efectos del destete temprano sobre el comportamiento adulto en un modelo animal

Early weaning and adult behavioral disorders in an animal model

Lic. Marcos Ojea Quintana^a, Dr. Carlos Fustiñana^{b,c} y Dr. Pablo Argibay^{a,c}

RESUMEN

El destete temprano ha demostrado ser un factor que disminuye la resistencia orgánica de los animales contra condiciones adversas. La prueba de natación forzada se diseñó para experimentar la defensa del animal frente a un estímulo estresante. La conducta activa como el "escalar" se interpreta como una modelización experimental de voluntad o capacidad activa de escape. Bajo la hipótesis de que el destete temprano podría tener manifestaciones en la vida adulta relacionadas con la defensa frente al estrés, nuestro objetivo fue analizar la conducta de "escalado" o escape, durante una prueba de natación forzada, en animales adultos que habían sido destetados precozmente. Se utilizaron 20 ratas Wistar (4 meses de edad), divididas en dos grupos: G1 con destete temprano y G2 control. La unidad de análisis o "tip", se refirió a la cantidad de veces que el animal presentó la conducta de escape a lo largo de 5 minutos. Se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los *tips* de G1 y G2 ($15,8 \pm 4,15$ contra $21,4 \pm 4,14$, $p < 0,05$). Por otra parte, se encontró también una diferencia significativa entre las ratas hembra y los machos. El presente estudio permitiría elucidar experimentalmente las acciones que en la vida adulta del individuo ocasionan alteraciones tempranas en los vínculos primarios.

Palabras clave: destete temprano, estrés, ratas.

SUMMARY

Early weaning (EW) has proven to be a factor that decreases the animal's organic resistance against adverse conditions. Climbing in the forced swimming test (FST) is the active behavior that expresses the will of the rat to escape the stressful situation. A possible association between these two stress factors (EW and FST) has not yet been reported as a plausible model for the study of stress and depression. Under the working hypothesis that EW has possible adult behavioral correlates when associated with the FST, our objective was to analyze the levels of alteration in the active behaviors among groups. 20 Wistar rats (4 month old), were divided into two groups, the early weaned group (G1) and a control group (G2). The unit of analysis (tip), was defined as the number of intended escapes the animal performs in five minutes. We have found the differences stated by our hypothesis, comparing the frequen-

cy of scale or escape (tips), from a group with EW to a control group (15.8 ± 4.15 vs. 21.4 ± 4.14 , $p < 0.05$). In turn, we found that, among females, the difference was significantly wider. The present study could elucidate under experimental conditions the effect that in adult behavior induces an alteration in the more primary bonds.

Key words: early weaning, stress, rats.

INTRODUCCIÓN

El lactante establece, en el acto del amamantamiento, un vínculo primario con su madre. Se puede considerar que, a partir de este acto, se asientan las bases estructurales, a nivel biológico y de comportamiento, para el procesamiento de señales que serán la base de la comprensión del mundo. La experimentación humana bajo condiciones controladas conlleva en este terreno una imposibilidad ética y, por ello, la psicología experimental nos ayuda a contrastar algunas hipótesis y dar sustento al marco teórico planteado por las diversas escuelas de psicología del desarrollo. Este tema es de creciente interés, máxime si se contempla la problemática social creciente del desamparo, producto de las diversas crisis que atraviesa la cultura actual.

Partimos de la hipótesis de que el destete temprano es un evento traumático (ET).¹ El ET implica toda una serie de trastornos neurobiológicos y distorsiones cognitivas que alteran las respuestas conductuales del individuo, lo cual supone un altísimo déficit para la calidad de vida del hombre.² Desde el punto de vista de la arquitectura cerebral, el período de la infancia es un momento en el que la plasticidad del cerebro hace a éste altamente vulnerable a los estímulos del medio. La vulnerabilidad es manifiesta en todos los niveles; es tanto fisiológica como psicológica y social.³ Por otra parte, es factible analizar experimentalmente, en modelos animales, diversas variables relacionadas con lo anterior. Estos modelos permiten estudiar el efecto de situaciones ambientales, fármacos y componentes genéticos, sobre las mismas variables en la vida adulta. En modelos experimentales de ET en etapas tempranas del desarrollo se han observado diferentes manifestacio-

a. Unidad de Psicología Experimental y Ciencias Cognitivas, Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental.

b. Servicio de Neonatología. Departamento de Pediatría.

c. Instituto Universitario.

Hospital Italiano de Buenos Aires.

Correpondencia: Dr. Pablo Argibay:
pablo.argibay@hospitalitaliano.org.ar

Conflicto de intereses: Ninguno que declarar.

Recibido: 9-3-10

Aceptado: 26-5-10

nes biológicas en la vida adulta.³⁻⁶ En el aspecto del comportamiento postraumático a largo plazo, puede verse una disminución en la socialización, expresada por la disminución de la motivación al juego agresivo intragrupal normal en el período juvenil en ratas.⁷

Basados en lo anteriormente expuesto, nuestra hipótesis de trabajo es que el destete temprano en ratas constituye un ET temprano y que es evidenciable en alteraciones de comportamiento en la vida adulta, a través de una prueba conductual internacionalmente validada.

El objetivo del presente trabajo fue asociar el destete temprano a los 15 días (G1), de un grupo de ratas Wistar (n= 10), con la conducta de "escalada" en la prueba conductual de la "natación forzada" (NF) de Porsolt⁸ en comparación con un grupo control (G2).

MATERIAL Y MÉTODOS

El procedimiento experimental ha sido ampliamente descrito (Figura 1). El ambiente de experimentación consiste en un cilindro con agua de 40 cm x 18 cm (altura/longitud) donde se introduce al animal. Éste no tiene posibilidades de escape. Luego de un período de movimiento vigo-

roso, el animal se acomoda en una postura inmóvil, dejando la cabeza fuera del agua como para respirar. A partir de los 5 segundos se evalúan diferentes movimientos a lo largo de 5 minutos. La conducta de "escalada" (Figura 1), representa una serie de movimientos enérgicos de nado e intento de escalar el recipiente.⁸⁻¹¹ Desde el punto de vista conductual, se trata de evaluar las conductas activas que un animal exhibe al ser sumergido en un recipiente (con características bien definidas) con agua. La cuantificación de la conducta de escalada se hace de la siguiente manera: pasados 5 segundos de la introducción del animal en el recipiente se evalúa cuántas veces (*tips*), exhibe la conducta de escalada a lo largo de 5 minutos. Se analizaron las diferencias estadísticas entre las medias (prueba de "t" para datos no apareados y análisis operativo de la varianza [ANOVA]). La diferencia entre las medianas fue analizada a través de las pruebas de Kruskal Wallis y de Mann-Whitney (Stanton A. Glantz Primer of Biostatistics versión 5.0 Mc Graw-Hill 2002).

RESULTADOS

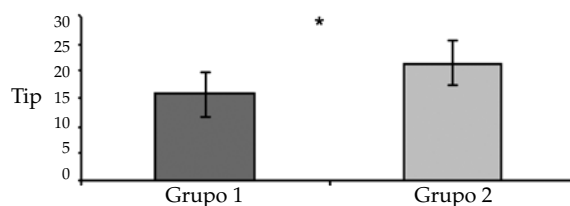
En la Figura 2 se pueden observar los resultados de la conducta activa de escalado en el FST. Se observaron diferencias de significación estadística entre las medias correspondientes a *tips* (intentos de escape o escalado en 5 minutos), del grupo 1 (con DT) y el grupo 2 (control): G1= 15,8 ± 4,15 contra G2= 21,4 ± 4,14, p< 0,05 ; prueba "t" y ANOVA. También se observaron diferencias entre las medianas (14,5 contra 22), p< 0,01; pruebas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney.

En la Figura 3 se puede observar la diferencia en los resultados de acuerdo al género analizado. Las hembras con DT marcaron más bajo que las testigo (hembras controles), al punto de

FIGURA 1. Foto tomada en condiciones de laboratorio donde se observa la conducta de "escalada" en la prueba de "natación forzada" de Porsolt⁸⁻¹¹



FIGURA 2. Evaluación de la conducta de "escalada" en "tips", número de veces que el animal muestra una conducta activa de nado e intento de salir del recipiente a partir de los 5 segundos de colocado en él y durante 5 minutos de observación



*p< 0,05, prueba "t".

Grupo 1: destete temprano, Grupo 2: control (n= 10 animales por grupo). Prueba de "t", $\alpha = 0,05$; $\beta = 0,2$.

separarse estadísticamente entre sí: $HG1 = 17,4 \pm 4,39$ contra $HG2 = 24,6 \pm 5,12$, $p < 0,05$ prueba "t" y ANOVA. Diferencia entre las medianas (15 contra 22) $p < 0,01$; pruebas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney.

DISCUSIÓN

En casi todas las especies, las conductas activas frente a un estímulo agresivo expresan la voluntad de escapar de la situación estresante. El FST evalúa estas conductas activas frente a un estresor poderoso en ratas, como lo es la colocación en un recipiente profundo y lleno de agua. Nuestros resultados indicarían que la rotura del vínculo primario (destete temprano), en los animales de experimentación, ha producido la disrupción del mecanismo de escape. Esta disrupción puede ser explicada en planos no excluyentes: el neurobiológico y el conductual. A nivel neurobiológico, el mecanismo más básico subyacente al desarrollo cerebral es el de la neuroplasticidad. Los factores ambientales y genéticos interactúan para generar la expresión diferencial de genes básicamente codificadores de factores de crecimiento, que intervendrán en la migración neuronal y en el futuro establecimiento de las conexiones y circuitos neurales.^{12,13}

El otro plano de explicación tiene que ver con aspectos psicológicos de la rotura del vínculo primario.

Es factible que, evolutivamente, las conductas sociales aun desde los inicios del desarrollo sean fundamentales a nivel evolutivo y, por consiguiente, resultan mantenidas a lo largo del desarrollo de las especies. Los roedores son animales altamente socializados y, junto a los factores genéticos, las experiencias de vida tempranas gobiernan la expresión y función de genes relacionados a mecanismos de defensa y adaptabilidad a situaciones traumáticas. La epigenética es la ciencia de la re-

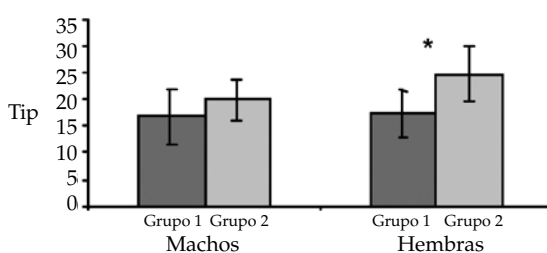
gulación de los genes a través de cambios bioquímicos en el ADN o la regulación a través del ARN. Existen indicios de que los estímulos ambientales inducirían cambios epigenéticos que modularían la función neuronal, con los consiguientes cambios cognitivos y conductuales.¹⁴ En nuestro modelo animal hemos observado que los animales sometidos al DT evidencian claramente una baja tolerancia al estrés, manifestada en una disminución de conductas activas defensivas frente al estresor. Sería factible que, durante el período de amamantamiento, el vínculo entre la madre y el neonato regule biológicamente factores necesarios para la posterior vulnerabilidad o resiliencia del adulto. Este tipo de animales inician su adultez-independencia rápidamente luego del destete fisiológico, por lo cual es perfectamente factible que la rotura de los mecanismos conductuales y biológicos precoces alteren mecanismos posteriores de defensa. Biológicamente, tanto en los seres humanos como en modelos animales, se acepta que tanto la calidad como la cantidad de los cuidados maternos regulan señales bidireccionales relacionadas con la expresión de genes relacionados con la secreción y regulación de los glucocorticoides. Estos cambios, a su vez, han sido asociados en adultos a conductas depresivas y baja tolerancia al estrés.

Un resultado interesante de nuestro estudio es que las hembras parecen menos tolerantes al DT. Se trata de un hallazgo experimental, pero creemos que existiría al menos una explicación conductual y sustento bibliográfico. Independientemente de que el vínculo primario entre una madre y una futura madre podría ser más vulnerable que en la relación madre-hijo, existen algunos datos bibliográficos de una menor tolerancia al estrés en mujeres, a la vez que una mayor incidencia de trastorno de estrés postraumático.¹⁵

Empero, varias cuestiones deben ser elucidadas, entre otras: ¿Cuál es la naturaleza neurobiológica de los mecanismos implicados en el DT? De existir, ¿qué tipo de mecanismos epigenéticos estarían implicados? ¿Cuál es la influencia del DT sobre las madres? ¿Cuál es la influencia del DT en otras conductas relacionadas con el amamantamiento y la cuida de las crías en la vida adulta? Este tipo de elucidaciones deberán ser respondidas en futuras investigaciones.

En conclusión, en el modelo experimental descrito, se muestra que el destete temprano en ratas desencadena mecanismos conductuales en la vida adulta de estos animales y los torna vulnerables al estrés. Estos mecanismos, parecerían ser más importantes aun en hembras.

FIGURA 3. Evaluación de la conducta de "escalada" en "tips", de acuerdo al género



* $p < 0,05$, prueba "t".

Grupo 1: destete temprano, Grupo 2: control (n= 5 animales por grupo). Prueba de "t", $\alpha = 0,05$; $\beta = 0,2$.

Financiación

Fundación para el desarrollo de las ciencias básicas (FUCIBA). ■

BIBLIOGRAFÍA

1. DSM IV. TR. Manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Barcelona; EditOriol Masson; 2005.
2. Heim C, Nemeroff CB. Neurobiology of posttraumatic Stress Disorder *CNS Spectr* 2009;14(1 Suppl 1):13-24.
3. Ader R, Friedman SB. Social factors affecting emotionally and resistance to disease in animals *V Psychosomatic Med* 1965;27:119-122.
4. Greenberg D, Ackerman S.H. Reduced fat stores after early weaning: a correlate of vulnerability to stress ulcers. *USA Physiology & Behavior* 1986;38(3):375-379.
5. Ackerman SH. Premature weaning, thermoregulation, and the occurrence of gastric pathology. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 1981;59:67-86.
6. LaBarba RC, White JL. Maternal deprivation and the response to Ehrlich carcinoma in BALB-c mice. *Psychosom Med* 1971;33:458-60.
7. Shimozuru M, Kodama Y, Iwasa T, Kikusui T, et al. Early weaning decreases play-fighting behavior during the post-weaning developmental period of Wistar rats. *Dev Psychobiol* 2007;49(4):343-50.
8. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978(47):379-391.
9. Taghzouti K, Lamarque S, Kharouby M, Simon H. Interindividual differences in active and passive behaviors in the forced-swimming test: implications for animal models of psychopathology. *Biol Psychiatry* 1999;45:750-758.
10. Detke M, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology* 1995;121:66-72.
11. Lino-de-Oliveira C, C.M. De Lima T, de P'adua Carobrez A. Structure of the rat behaviour in the forced swimming test. *Behav Brain Res* 2005;158:243-250.
12. Cassano P, Hidalgo A, Burgos V, Adris S, Argibay P. Hippocampal upregulation of the cyclooxygenase-2 gene following neonatal clomipramine treatment. *Pharmacogenomics J* 2006;6(6):381-7.
13. Cassano P, Argibay P. Depression and neuroplasticity. Interaction of nervous, endocrine and immune systems. *Medicina (B Aires)* 2010;70(2):185-93.
14. Zhang TY, Meaney MJ. Epigenetics and the environmental regulation of the genome and its function. *Annu Rev Psychol* 2010;61:439-66,C1-3.
15. Becker JB, Monteggia LM, Perrot-Sinal TS, Romeo RD, et al. Stress and disease: is being female a predisposing factor? *J Neurosci* 2007;27(44):11851-11855.