

ACCION DE LA NUTRICION Y AMBIENTE SOBRE LOS NIVELES DE MACROMOLECULAS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL*

Luis Castilla Serna**

Sugita¹ en 1918 demostró por medio de un modelo experimental en ratas, que la **desnutrición proteínico-calórica durante la lactancia** producía disminución en la densidad del "paquete" celular en la corteza cerebral y disminución del tamaño de las células piramidales y su núcleo cuando se comparaban con la corteza cerebral de ratas testigo bien nutridas, agrupadas por sexo, edad y peso al nacer. Asimismo, este autor mostró que los efectos más marcados sobre la corteza cerebral se manifestaron en todos los animales sacrificados antes del decimosexto día postnatal.

Siassi y Siassi,² y Clark y col.,³ han reportado que a medida que el período de hipoalimentación es más temprano y prolongado, los efectos sobre la celularidad en corteza cerebral son aún más notorios. En este sentido, Siassi y Siassi² demostraron que la desnutrición prenatal provocó los valores más bajos en la **cantidad de células gliales y endoteliales y en el grosor de la corteza cerebral**. Esta condición persistió aun cuando los animales fueron realimentados adecuadamente. Dobbing y col.,⁴ reportan un déficit permanente en el número de células gliales en la corteza cerebral de ratas a la edad de 30 semanas, las que tuvieron el antecedente de haber sido moderadamente desnutridas durante la lactancia por incremento en el número de crías en la camada.

De la misma manera como se establecen cambios en las células del sistema nervioso central (SNC) por efecto de la diferente ingestión de alimento, otros factores no nutricionales se asocian también a la disminución en la

cantidad de células en el SNC. El aislamiento ambiental en particular, tiene efecto semejante a lo observado en la desnutrición. De especial interés a este respecto, son las investigaciones de Bennett, Diamond, Krech y Rosenzweig⁵ quienes han explorado dos medios ambientales contrastantes a los que sujetan a animales experimentales a partir del destete. Uno de estos medios es altamente estimulante y consta de una jaula con un ambiente complejo para el animal. El otro medio representa una condición de aislamiento, producido por jaulas individuales libres de estímulos luminosos y sonoros. Estos autores han informado que después de 60 días de haber mantenido a ratas en estos ambientes, el grosor de la corteza cerebral es significativamente inferior en los animales aislados. Asimismo, el número de células gliales de la corteza cerebral fue 15 por ciento inferior en las ratas aisladas con respecto al de las provenientes de ratas que residieron en ambiente estimulante. Estos hallazgos fueron confirmados en nueve réplicas sucesivas. Otros investigadores, como Altman y Dass⁶ y Walsh y Budtz-Olsen⁷ comunican resultados semejantes.

Es necesario hacer notar, que el control de ambas variables se vuelve más importante, **cuando se toman en cuenta los estudios realizados por el grupo de Barnes,⁸ acerca de la influencia de la interacción nutrición-estimulación sobre la conducta**. En esta comunicación, los autores demuestran los efectos negativos de la desnutrición sobre el comportamiento de los animales que se incrementa **notablemente en aislamiento ambiental**. En cambio, la estimulación es capaz de minimizar los efectos causados por la desnutrición. De la misma manera, Morgan y Winnick,⁹ informan cambios bioquímicos causados por la des-

* Trabajo presentado en el Simposium Internacional de Neuropediatría. México, D.F.

** Investigador del Instituto Nacional de Ciencias y Tecnología para la Salud del Niño. Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia (DIF). México.

nutrición proteínico-calórica que difieren entre sí cuando se manipulan las variables ambientales de estimulación y aislamiento. Los resultados de estos investigadores señalan diferencias significativas desfavorables para los animales desnutridos sin estimulación.

Tomando en consideración lo anterior, resulta aparente que para una correcta interpretación de los hallazgos bioquímicos que se presentan en el SNC en los sujetos desnutridos, es necesario conocer las condiciones de aislamiento en las que se han mantenido los individuos afectados antes, durante y posteriormente al episodio de la desnutrición.

En esta comunicación se presentan los resultados de una investigación experimental en ratas, en la cual se manipulan las variables ambiente y nutrición en forma concomitante.

METODO EXPERIMENTAL

Se elaboró un diseño factorial del tipo 2 x 3 semejante al empleado por Levitsky y Barnes,⁸ usando dos niveles de condición nutricional y tres situaciones ambientales, como se ilustra en el cuadro 1.

CUADRO 1
DISEÑO EXPERIMENTAL

Grados nutrición	Grados de estimulación		
	Estimulados	Controles	Aislados
Bien nutridos	8	8	8
Desnutridos	8	8	8

Se aparearon ratas de la cepa Wistar, para obtener crías machos nacidas un mismo día, en cantidad suficiente para formar un duplicado del diseño de ocho crías por celda. La distribución de los animales fue realizada con una tabla de números aleatorios.

Los animales se desnutrieron mediante la administración a la madre, durante la lactancia, de una dieta a base de caseína al 12% consumida *ad libitum*. Las crías fueron destetadas a los 21 días con una dieta a base de caseína al 7%, alimentación con la que continuaron hasta cumplir 50 días, momento en que se les administró dieta completa de Purina Chow consumida *ad libitum*. Las dietas se adi-

cionaron de vitaminas y minerales de acuerdo con normas establecidas.

A las madres de los animales bien nutridos, se les alimentó con caseína al 24 por ciento. Las crías se destetaron a los 21 días con esta misma dieta y a los 50 días se pasaron a Purina Chow consumida *ad libitum*.

Los grupos de animales bien nutridos y los desnutridos, se dividieron cada uno en tres subgrupos. El primero, denominado "estimulado", se mantuvo durante 21 días en jaulas de lactancia y diariamente los animales se manipulaban; al destete y hasta cumplir 50 días de edad, se colocaron en jaulas con capacidad para ocho animales. Estas jaulas, tenían en su interior ruedas giratorias, rampas, escalerillas metálicas y pequeñas bolas de vidrio. Además de ser manipulados diariamente, estos animales se sujetaron a estimulación sonora mediante exposición a música cinco minutos cada hora durante las 24 horas del día.

El segundo subgrupo, denominado "de aislamiento", se caracterizó por la permanencia durante los primeros 21 días en jaulas de lactancia, las que eran tapadas para obtener el mínimo ingreso de estímulos luminosos y sonoros. A partir del destete, se colocaron en jaulas individuales de tipo metabólico para ratas, hasta cumplir 50 días. Finalmente, el grupo testigo, se mantuvo en el medio habitual del bioterio, en jaulas comunes para ratas.¹⁰

En cada subgrupo se fueron sacrificando animales, que con anterioridad habían sido tomados al azar a los 50, 85 y 120 días.

En el momento del sacrificio, por decapitación, se procedió a extraer el encéfalo, sin incluir bulbos olfatorios. Una vez obtenido el peso total de la porción extraída, se procedió a separar la corteza cerebral y obtener su peso. Dicha corteza fue homogeneizada en agua destilada, para llevar a cabo extracción de ácidos nucleicos por el método de Schneider¹¹ y la determinación de ácido desoxirribonucleico por el de la difenilamina¹²

RESULTADOS

En el cuadro 2, se presentan los promedios de pesos corporales y desviación estándar correspondiente, donde se pueden apreciar las marcadas diferencias entre los animales bien

CUADRO 2
INFLUENCIA DE LA DESNUTRICION EN LOS PRIMEROS 50 DIAS DE VIDA POSTNATAL EN LA FASE DE RECUPERACION SOBRE EL PESO CORPORAL Y PESO ENCEFALICO TOTAL. INDEPENDIEMENTE DEL GRADO DE PRIVACION PREVIO.

Peso corporal			
Días de vida	50	85	120
Bien nutridos	PROMEDIO D.E. 166.0 ± 13.2	PROMEDIO D.E. 320.5 ± 35.0	PROMEDIO D.E. 429.6 ± 30.1
Desnutridos	54.3 ± 5.4	226.9 ± 31.7	362.1 ± 43.5
"F"	625.4***	39.3**	16.2**
Peso encefálico total (tejido fresco)			
Días de vida	50	85	120
Bien nutridos	PROMEDIO D.E. 1.7545 ± 0.089	PROMEDIO D.E. 1.8148 ± 0.089	PROMEDIO D.E. 2.0134 ± 0.059
Desnutridos	1.4885 ± 0.078	1.6748 ± 0.078	1.9163 ± 0.094
"F"	51.2**	14.0**	5.6*

*** p menor a 0.001

** p menor a 0.01

* p menor a 0.05

CUADRO 3
ANALISIS DE VARIANZA ENTRE LOS PESOS CORPORALES ENCONTRADOS A LOS 120 DIAS DE VIDA POSTNATAL POR RATAS MACHOS BIEN NUTRIDOS Y DESNUTRIDOS EN LA ETAPA FINAL DE RECUPERACION NUTRICIONAL Y AMBIENTAL Y POSTERIOR A PROCESO DE ACONDICIONAMIENTO EN UN LABERINTO EN "T" DE ESCAPE A SHOCK ELECTRICO.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F
Entre grupos	31239.0	5	6247.0	4.05*
Dentro de grupos	24672.0	16	1542.0	
Total	55911.0	21	2662.0	
Bien nutridos vs. Desnutridos	25025.0	1	25025.0	16.22 *
Bien nutridos aislados vs. bien nutridos estimulados • controles	1016.0	1	1016.0	0.65
Bien nutridos estimulados vs. bien nutridos controles	1624.0	1	1624.0	1.05
Desnutridos aislados vs. desnutridos estimulados • controles	49.92	1	49.92	0.03
Desnutridos estimulados vs. Desnutridos controles	3523.0	1	3523.0	2.28

* p menor a 0.01

nutridos y los desnutridos, desde el período de desnutrición crónica hasta 70 días después en que se encontraron recuperados de la desnutrición.

Es de hacer notar que no hubo diferencias estadísticamente significativas por efectos del ambiente. **Las diferencias fueron juzgadas por análisis de varianza (cuadro 3).**

Los pesos encefálicos se expresan como promedios y desviación estándar y nuevamente desviación estándar a los 50, 85 y 120 días y se ilustran también en el cuadro 2. Se puede observar que existen diferencias significativas desde el período de desnutrición crónica hasta el momento de la realimentación adecuada de 35 y 70 días. No hubo diferencias por efecto del ambiente.

En los pesos de la corteza cerebral juzgados por análisis de varianza, cuadro 4, se puede observar que a los 35 días después de la desnutrición crónica, persisten diferencias altamente significativas, desfavorables para los animales desnutridos. Cuando se comparan los animales desnutridos aislados versus animales desnutridos estimulados, se aprecian diferencias significativas desfavorables para los animales aislados. En cambio, cuando se comparan animales testigo y estimulados, las diferencias no son significativas.

Los valores de ácido **desoxirribonucleico** en corteza cerebral se ilustran en la figura 1, donde claramente se pueden observar las diferencias entre los animales que fueron aislados y los que recibieron estimulación previamente,

CUADRO 4

ANALISIS DE VARIANZA ENTRE PESOS FRESCOS DE TEJIDO DE CORTEZA CEREBRAL TOTAL ENCONTRADOS A LOS 85 DIAS DE VIDA POSTNATAL POR RATAS MACHOS BIEN NUTRIDOS Y DESNUTRIDOS EN ETAPA DE RECUPERACION NUTRICIONAL Y AMBIENTAL.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F
Entre grupos	0.171	5	0.0034	6.80*
Dentro de grupos	0.074	13	0.0005	
Total	0.0245	18	0.0013	
Bien nutridos vs. Desnutridos	0.0100	1	0.0100	20.00**
Bien nutridos aislados vs. Bien nutridos estimulados * Controles	0.004	1	0.0004	0.8
Bien nutridos estimulados vs. Bien nutridos controles	0.00016	1	0.00016	0.32
Desnutridos aislados vs. Desnutridos estimulados * Controles	0.0057	1	0.0057	11.52**
Desnutridos estimulados vs. Desnutridos controles	0.00002	1	0.00002	0.04

* p menor a 0.01

** p menor a 0.001

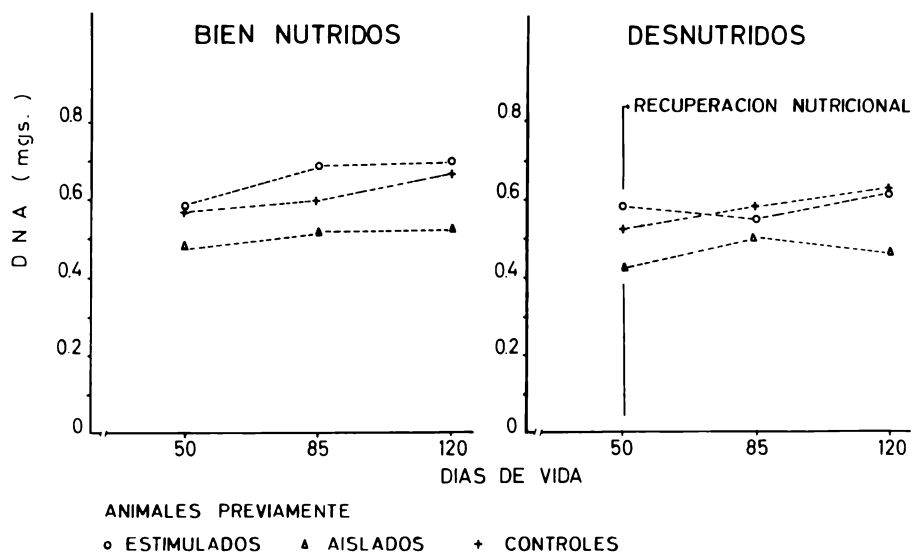


Fig. 1. Efecto de la recuperación ambiental y/o nutricional sobre la cantidad de DNA en tejido fresco de corteza cerebral de ratas, con y sin antecedente de privación durante los primeros 50 días de vida.

CUADRO 5

ANALISIS DE VARIANZA ENTRE LAS CANTIDADES DE DNA EN TEJIDO FRESCO DE CORTEZA CEREBRAL TOTAL ENCONTRADOS A LOS 120 DIAS DE VIDA POSTNATAL POR RATAS MACHOS BIEN NUTRIDOS Y DESNUTRIDOS EN LA ETAPA FINAL DE RECUPERACION NUTRICIONAL Y AMBIENTAL. Y POSTERIOR A PROCESO DE ACONDICIONAMIENTO EN UN LABERINTO EN "T" DE ESCAPE A SHOCK ELECTRICO.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F
Entre grupos	0.16621	5	0.03324	9.25*
Dentro de grupos	0.05759	16	0.00359	
Total	0.22380	21	0.01065	
Bien nutridos vs. desnutridos	0.03424	1	0.03424	9.53*
Bien nutridos aislados vs. Bien nutridos estimulados • Controles	0.05770	1	0.05770	16.07*
Bien nutridos estimulados vs. Bien nutridos controles	0.00192	1	0.00192	0.53
Desnutridos aislados vs. Desnutridos estimulados • Controles	0.07221	1	0.07221	20.11*
Desnutridos estimulados vs. Desnutridos controles	0.00019	1	0.00019	0.05

* p menor a 0.01

CUADRO 6

INFLUENCIA DEL AISLAMIENTO RECIBIDO DURANTE LOS PRIMEROS 50 DIAS DE VIDA POSTNATAL, SOBRE LA EVOLUCION DE LA CANTIDAD DE ACIDO DES-OXIRIBONUCLEICO EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS BIEN NUTRIDAS Y DES-NUTRIDAS.

Ratas desnutridas							
Días de Vida	Aislados Promedio D.E.	Controles * Estimulados Promedio D.E.	"F"	Estimulados Promedio D.E.	Controles Promedio D.E.	"F"	
"DNA" en corteza cerebral (Tejido fresco)	50	0.4365 ± 0.048	0.5556 ± 0.050	12.5**	0.5806 ± 0.043	0.5306 ± 0.045	n.s.
	85	0.5017 ± 0.036	0.5700 ± 0.045	4.42*	0.5508 ± 0.025	0.5844 ± 0.051	n.s.
	120	0.4640 ± 0.026	0.6340 ± 0.061	20.1**	0.6262 ± 0.065	0.6371 ± 0.058	n.s.
Ratas bien nutridas							
Días de Vida	Aislados Promedio D.E.	Controles * Estimulados Promedio D.E.	"F"	Estimulados Promedio D.E.	Controles Promedio D.E.	"F"	
"DNA" en corteza cerebral (Tejido fresco)	50	0.4754 ± 0.074	0.5865 ± 0.031	10.9**	0.5916 ± 0.039	0.5814 ± 0.021	n.s.
	85	0.5272 ± 0.061	0.6488 ± 0.080	11.2**	0.6929 ± 0.081	0.6048 ± 0.049	n.s.
	120	0.5717 ± 0.041	0.6934 ± 0.065	16.0**	0.7099 ± 0.041	0.6789 ± 0.060	n.s.

* p menor a 0.05

** p menor a 0.01

tanto para los animales bien nutridos como para los desnutridos. Las diferencias juzgadas por análisis de varianza que pueden verse en el cuadro 5, señalan que entre los grupos bien nutridos y desnutridos existe diferencia significativa al nivel de "p" menor a 0.01. Pero cuando se cancelan los efectos dados por la condición nutricional, los animales aislados se muestran en una desventaja altamente significativa.

El fenómeno previamente relatado, no solamente se observa inmediato a la desnutrición crónica, sino en todo el curso del experimento. Esto se ilustra en el cuadro 6.

DISCUSION

En el presente trabajo, nuevamente se comprueba el efecto negativo sobre las células de corteza cerebral que es capaz de producir la desnutrición proteinico-calórica. Sin embargo, es necesario dejar asentado que cuando se

agrega el aislamiento ambiental los efectos se hacen más notorios.

En sentido opuesto, cuando a la desnutrición se asocia estimulación, se minimizan los efectos causados por la desnutrición y en ocasiones desaparece la diferencia bioquímica entre animales bien nutridos y los desnutridos.

Es de importancia hacer énfasis, que el aumento en la celularidad sólo es apreciable en la corteza cerebral, cuando los animales se han expuesto a sobreestimulación. Este fenómeno lo explican varios autores,^{5,6,7} en función de una migración de elementos celulares indiferenciados a partir de las zonas germinales subependimarias de los ventrículos laterales, cuyo destino, según opinión de estos investigadores, constituyen elementos gliales.

Estos hallazgos a nivel bioquímico, son complementarios de lo encontrado por Levitsky y Barnes,⁸ a propósito de la estimulación sobre la conducta de los animales desnutridos. Al emplear el mismo diseño de investigación que se utilizó en el presente trabajo, los auto-

res citados reportaron que la agresividad, emocionalidad y aun el aprendizaje simple, que se encuentra retardado en los animales desnutridos, es prácticamente normal en aquellos animales a los que se les estimuló y desnutrió simultáneamente. En sentido opuesto, los animales que se desnutrieron y se mantuvieron aislados, los efectos sobre el retardo en el aprendizaje se presentaron en forma más evidente.

Es de llamar la atención en la investigación, la desigualdad de los resultados entre el peso de la corteza cerebral y su celularidad, que sería de esperar fueran semejantes. La explicación radica en la diferente manera de crecimiento de los órganos y sistemas, la cual se realiza en dos etapas.¹³ La primera de hiperplasia celular, es decir, aumento en la cantidad de células, expresado bioquímicamente como incremento en el ADN. La segunda fase corresponde a hipertrofia celular, que se caracteriza por aumento en los componentes citoplásmicos, proteínas, agua y otros. En el estudio se hace evidente que la igualdad en los pesos de la corteza cerebral aun cuando la celularidad es baja, se compensó por hipertrofia celular en lo que respecta a animales desnutridos y bien nutridos aislados.

La importancia que pudiera tener un trabajo experimental como el presente, estriba en el hecho de que en poblaciones humanas, la pobre estimulación es una característica casi constante en las comunidades donde el riesgo de desnutrición es muy alto.^{14,15} En este sentido es interesante el informe de Cravioto y Delicardie,¹⁶ haciendo notar que la diferencia fundamental en las familias que tuvieron o no niños con desnutrición clínica grave, fue la cantidad y calidad de estimulación disponible en el hogar, con la circunstancia de que todas las familias vivían en condiciones semejantes de pobreza económica y cultural.

En los niños que han sobrevivido a desnutrición clínica grave y que se han recuperado mediante dieta adecuada, se ha encontrado re-

tardo en la integración intersensorial, en la adquisición del lenguaje y en los mecanismos de aprendizaje de lectura y escritura.^{16,17,18} Sin embargo, por el momento resulta difícil atribuirlos a una causa primaria, es decir, a ingesta deficiente en proteínas o bien a causas asociadas a la desnutrición como son: interferencia en los periodos críticos del crecimiento y desarrollo, pérdida del tiempo para el aprendizaje, cambios en la motivación y personalidad de la madre o sustituta que cuida al niño, o bien baja o ausente estimulación a nivel del hogar y procesos infecciosos prevalentes donde se genera la desnutrición.

RESUMEN

El estudio experimental de la acción de la nutrición y el medio ambiente sobre los niveles de macromoléculas en el SNC, por medio de la extracción del DNA de la corteza cerebral de animales sometidos a condiciones anormales, permite observar que la asociación de desnutrición y aislamiento produce efectos severos en la celularidad del SNC. En cambio la estimulación por medio de factores ambientales normales es capaz de minimizar los efectos deletéreos de la hipoalimentación proteínico-calórica crónica, lo que le concede valor significativo para el desarrollo del SNC.

SUMMARY

The present paper shows an experimental study in Albino rats, handling the environmental and nutrition variables, in early life. This study presents the results of deoxyribonucleic acid in cerebral cortex. It shows that the association of undernutrition and isolation gives the slowest levels of cellularity in cerebral cortex. On the other hand, the stimulation is able to minimize the alteration on cell number that has been observed in protein-calorie malnutrition.

BIBLIOGRAFIA

1. Sugita, N., "Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. VII The influence of starvation at an early age upon the development of the cerebral cortex in Albino rat.", *J. Compl. Neurol.*, 29: 177, 1918.
2. Siassi, F. y Siassi, B., "Differential effects of protein caloric restriction and subsequent repletion on neuronal and nonneuronal components of cerebral cortex in newborn rats", *J. Nutr.*, 103: 1625, 1973.
3. Clark, G.M., Zamenhoff, S., Van Marthens, E., Gravel, L. y Kruger, L. "The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex", *Brain Res.*, 54: 397, 1973.
4. Dobbing, J., Hopewell, J.W. y Lynch, A., "Vulnerability of developing brain. VII Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition", *Expl. Neurol.*, 32: 439, 1971.
5. Bennett, E.L., Diamond, M.C., Krech, D. y Rosenzweig, M., "Chemical and anatomical plasticity of brain", *Science*, 146: 610, 1961.
6. Altman, J. y Dass, G., "Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis", *J. Compl. Neurol.*, 126: 337, 1968.
7. Walsh, E.M. y Budzt-Olsen, O.E., "The effect of environmental complexity on the histology of the rat brain", *J. Compl. Neurol.*, 137: 361, 1969.
8. Levitsky, D.A. y Barnes, R.H., "Nutrition and environmental interactions in the behavioral development of the rats. Long-term effects", *Science.*, 176: 68, 1970.
9. Morgan, B.L.G. y Winick, M., "Effects of environmental stimulation on brain N-acetylneuraminic acid content and behavior", *J. Nutr.*, 110: 425, 1980.
10. Castilla, S.L., Cravioto, A. y Cravioto, J., "Efectos a corto plazo de la interacción estimulación desnutrición sobre el desarrollo bioquímico del sistema nervioso central", *Gac. Méd. de Méx.*, 115: 225, 1979.
11. Schneider, W.C., "Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extractions and estimations of deoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid", *J. Biochem.*, 161: 293, 1945.
12. Burton, K., "Study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of the deoxiribonucleic acid", *J. Biochem.*, 62: 315, 1956.
13. Winick, M. y Noble, A., "Cellular response in rats during malnutrition at various ages", *J. Nutr.*, 89: 300, 1966.
14. Cravioto, J. y DeLicardie, E.R., "Ecology of malnutrition. Environmental variables associated with clinical severe malnutrition". En: *Modern problems in pediatrics*, vol. 14. Falkner, F.: Kretchmer, N. y Rossi, E. (Eds), Basilea, Karger, 1975, p. 157.
15. Cravioto, J. y DeLicardie, E.R., "Microenvironmental factor in severe protein-caloric malnutrition". En: *Nutrition and agricultural development.*, Scrimshaw, N. y Béhar, M. (Eds), Nueva York, Plenum Publ. Co., 1976, p. 25.
16. DeLicardie, E.R. y Cravioto, J., "Estimulación, desnutrición clínica grave y desarrollo del lenguaje en niños rurales", *Gac. Méd. Méx.*, 105: 333, 1973.
17. Cravioto, J. DeLicardie, E.R. y Birch, H.G., "Nutrition growth and neurointegrative development. An experimental and ecology study", *Pediatrics*, 38: 319, 1966.
18. Cravioto, J. y DeLicardie, E.R., "Nutrition and behavior and learning". En: *Nutrition and the world food problems.*, Rechcigl, M. (Eds.) Basilea, Karger, 1979, p. 85.