
EFECTOS DE LAS EXPERIENCIAS ADVERSAS TEMPRANA Y TARDÍA EN LA CONDUCTA DE INGESTA DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS DURANTE SU ADULTEZ

Bélgica Vásquez, Cristian Sandoval, Ricardo Luiz Smith y Mariano del Sol

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue conocer a través de la alteración del vínculo social temprano madre-cría y del vínculo social tardío por aislamiento, el efecto sobre la conducta de ingesta en ratas sometidas a estrés crónico intermitente, en la vida adulta. Se emplearon 28 ratas hembras recién nacidas. Los grupos experimentales fueron expuestos a experiencias adversas temprana (E1), tardía (E2) y temprana-tardía (E3), y sometidas a estrés crónico intermitente por seis días, en la adultez. Se evaluó la conducta de ingesta en etapa de anticipación y estrés. Respecto a la masa corporal hubo diferencias significativas en la masa inicial (día 1) entre los distintos grupos. La masa final (día 6) fue mayor en el grupo E3 mostrando di-

ferencias significativas con E1 y E2. El grupo E1, presentó el mayor consumo promedio de calorías totales, tanto en etapa de anticipación como de estrés. Respecto a la conducta de ingesta en los distintos grupos, para el día 1, hubo mayor consumo en etapa de anticipación que en etapa de estrés, tendiendo a homologarse el consumo entre todos los grupos para el día 6. Bajo estrés crónico, el consumo total de calorías de Quaker Quadritos® fue mayor en los grupos E1 y E2 que en el grupo control. Las experiencias adversas temprana y tardía son factores que influyen en las estrategias de afrontamiento ante una situación de estrés, favoreciendo mayor consumo de calorías y elección por alimentos palatables.

Introducción

El sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de muerte en el mundo (OMS/FAO, 2003). Entre los años 1997 y 1999, se consumía 2803Kcal/persona/día y para los años 2015 y 2030 se proyectan consumos de 2940 y 3050Kcal/persona/día, respectivamente. La realidad en América Latina y el Caribe para tales años es aún más impactante, ya que se proyectan consumos de 2980Kcal/persona/día para 2015 y 3140Kcal/persona/día para 2030 (FAO, 2002).

Algunas explicaciones psicológicas respecto a las personas con nutrición inadecuada, se relacionan con las diferencias

individuales. Dependiendo de factores tales como variables constitucionales, contextos de desarrollo y personalidades adictivas, entre otros, existiría un patrón complejo en la influencia del estrés ambiental sobre la conducta alimentaria. Así, aquellos sujetos con cierto tipo de vulnerabilidad aumentarían su ingesta de alimentos en condiciones de estrés. Bajo este contexto, Davis *et al.* (2004) señalaron que la sensibilidad a la recompensa, es decir, individuos hedónicos propensos a disfrutar de las recompensas naturales como la comida, se correlacionan positivamente con las medidas de comer en exceso emocional, y que a su vez se asocia con mayor peso corporal.

Existe un interés creciente por el rol que juegan los rasgos de personalidad con la regulación de la ingesta. Terracciano *et al.* (2009) señalaron que individuos con bajo peso (IMC<18,5) puntuaron más alto en neuroticismo, con tendencia a ser particularmente ansiosos, vulnerables y hostiles, mientras que los grupos con sobrepeso (IMC 25-30) y obesos (IMC>30) obtuvieron puntuaciones bajas en conciencia y se caracterizaban por presentar mayor impulsividad e incapacidad para resistir tentaciones y antojos.

Bajo el contexto de la teoría de apego, Troisi *et al.* (2005) y Stenhammar *et al.* (2010) observaron que mujeres con trastornos alimenticios

presentaban síntomas más severos de ansiedad debido a separación en la infancia, reflejando estilos de apego inseguro en la adultez, junto con una mayor necesidad de aprobación por la sociedad. D'Argenio *et al.* (2009) encontraron una fuerte asociación entre el apego ansioso y la obesidad. Señalaron que este hallazgo es esperable, debido a que el apego inseguro es un resultado frecuente de las experiencias adversas tempranas y porque el comportamiento desordenado de comer es a menudo asociado con el apego ansioso.

Para explicar la vía fisiológica responsable de los cambios alimenticios en individuos, diversos grupos de

PALABRAS CLAVE / Estrés / Experiencia Adversa / Ingesta / Rata /

Recibido: 06/11/2015. Modificado: 02/02/2016. Aceptado: 05/02/2016.

Bélgica Vásquez. Tecnólogo Médico, Magíster en Ciencias Mención Morfología y Doctora en Ciencias Morfológicas, Universidad de La Frontera, Chile. Docente Investigadora, Universidad de Tarapacá. Dirección: Avenida General Velásquez 1775, Casilla 6-D, Arica, Chile. e-mail: bvasquezp@uta.cl

Cristian Sandoval. Tecnólogo Médico y estudiante de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Universidad de La Frontera, Chile. Investigador, Centro de Investigador CIMA, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Chile. e-mail: cristian.sandoval@ufrontera.cl

Ricardo Luiz Smith. Licenciado en Medicina, Universidade

Federal de São Paulo (UFSP), Brasil. Master en Anatomía, Escola Paulista de Medicina, Brasil. Doctor en Ciencias Morfofuncionales, Universidade de São Paulo, Brasil. Docente Investigador, Escola Paulista de Medicina, UFSP, Brasil. e-mail: rlsmith@unifesp.br

Mariano del Sol. Tecnólogo Médico, Universidad de

Chile, Chile. Master en Anatomía y Doctor en Ciencias Escuela Paulista de Medicina, Brasil. Docente Investigador, Universidad de La Frontera, Chile. e-mail: mariano.delsol@ufrontera.cl

EFFECTS OF EARLY AND LATE ADVERSE EXPERIENCES ON INTAKE BEHAVIOR OF RATS SUBJECTED TO STRESS DURING ADULTHOOD

Bélgica Vásquez, Cristian Sandoval, Ricardo Luiz Smith and Mariano del Sol

SUMMARY

The aim of this study was to ascertain the effect on intake behavior, in adult rats subjected to intermittent chronic stress, through the alteration of the early rat-breeding linkage and altering the late social linkage through isolation. Twenty-eight newborn female rats were used. Experimental groups were exposed to early (E1), late (E2), and early-late (E3) adverse experiences, and subjected to intermittent chronic stress, for six days, in adulthood. The behavior was evaluated at the anticipatory and stress stages. Regarding body mass there was significant differences in the initial mass (day 1) between groups. The final mass (day 6) was higher in the E3 group showing significant differences with the E1 and E2

groups. The group subjected to early adverse experiences presented the highest average caloric intake in both the anticipatory and stress stages. In terms of the intake behavior observed in the different groups for day 1, there was greater consumption in the anticipatory stage than in the stress stage, with a tendency to harmonize intake among all the groups by day 6. Under chronic stress situation, total caloric intake from Quaker Quadritos® was higher in groups E1 and E2 than in the group controls. The early and late adverse experiences are factors that influence confrontation strategies at a stressful situation favoring higher calorie intake and food choice palatable.

EFEITOS DE EXPERIÊNCIAS ADVERSAS PRECOSES E TARDIOS NA CONDUÇÃO DA INGESTÃO DE RATOS SUBMETIDOS A ESTRESSE NA IDADE ADULTA

Bélgica Vásquez, Cristian Sandoval, Ricardo Luiz Smith e Mariano del Sol

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi compreender as alterações de vínculo sociais produzidas precoce e tardiamente em ratas e na sua prole por isolamento, o efeito sobre o comportamento alimentar em ratas submetidas ao estresse crônico descontinuo na vida adulta. Foram utilizados 28 ratos fêmeas recém-nascidos. Os grupos experimentais foram expostos a experiências adversas precoces (E1), tardias (E2) e de início tardio (E3) e ainda submetidos a estresse crônico na idade adulta de forma descontínua durante seis dias. Foram avaliados o comportamento alimentar no estágio precoce e de estresse. Em relação ao peso corporal foram encontradas diferenças significativas no peso inicial (dia 1) entre os grupos estudados. O peso final (dia 6) foi maior no grupo E3 mostrando diferenças significa-

tivas entre os grupos E1 e E2. O grupo E1, teve o maior consumo média de calorias totais, tanto no estágio precoce como no estresse crônico. Em relação ao comportamento alimentar observado nos diferentes grupos no dia 1, houve um aumento do consumo na fase precoce em relação a fase de estresse, observando que o consumo entre os grupos no dia 6 foi igual. Na fase de estresse crônico, a ingestão calórica total obtida pela ingestão da ração Quaker Quadritos® foi maior nos grupos E1 e E2, do que nos grupos controles. As experiências adversas precoces e tardias podem ser consideradas como fatores que influenciam nas estratégias de defesa em situação de estresse, favorecendo assim um maior consumo de calorias e a escolha de alimentos mais saborosos.

investigadores han desarrollado modelos en ratas que incorporan múltiples variables que interactúan con la situación de estrés, tales como, el uso de alimentos palatables, aislamiento social, hacinamiento, privación de alimento, el uso de ratas dominantes y subordinadas, la interrupción temprana del vínculo social, entre otros. Así mismo, se ha intentado explicar el efecto del estrés fundamentalmente en la cantidad de alimento ingerido (aumento vs decremento), en el aporte calórico del alimento ingerido (aumento de ingesta de alimentos hipercalóricos) y/o los cambios en el peso corporal. Existen discrepancias en los resultados obtenidos, ya que éstos cambian según la

variable en estudio, características del agente estresor utilizado (físico o social) y el tiempo de exposición (agudo o crónico).

Al respecto, Torres-González *et al.* (2009) demostraron experimentalmente en modelos en ratas, que se producía un aumento en el consumo de alimento y de agua endulzada con glucosa, durante el período de estrés crónico de tipo físico. En relación al efecto del estrés crónico de tipo social en la respuesta de ansiedad y consumo de alimento en ratas, Dallman *et al.* (2006) y Dallman (2009) observaron un aumento de glucocorticoides plasmáticos, generando estimulación de conductas mediadas por las vías de

reforzamiento dopaminérgicas mesolímbicas, incrementando la ingesta.

Bartolomucci *et al.* (2009) establecieron la existencia de una tendencia a la hiperfagia, tanto en ratas aisladas y no aisladas, cuando se les ofrecía una dieta sabrosa y alta en grasas, en comparación a una dieta estándar. Recientemente, Kumar *et al.* (2013) en un modelo realizado en ratones evaluaron la relación entre el estrés crónico social, los antidepresivos y la ingesta de alimentos. Observaron que el estrés aumenta la ingesta para disminuir la ansiedad y que el tratamiento con fluoxetina puede revertir los cambios inducidos por el estrés en los patrones de comida.

Cárdenas-Villalvazo *et al.* (2010) señalaron que no existe una relación directa del estrés por aislamiento y/o hacinamiento, con el aumento del consumo de alimento ni con la obesidad. Por el contrario, observaron reducción temporal del consumo y retraso pasajero de la tasa de crecimiento. Lo anterior es consecuente con investigaciones de Adzic *et al.* (2009), quienes establecieron que el estrés social crónico puede deprimir por retroacción al eje hipotálamo-hipofisiario-adrenal (HHA), con la consecuente disminución en la ingesta de alimentos.

Otros autores han estudiado los efectos que se producen al variar el período de privación y el tiempo de acceso al

alimento. López-Espinoza y Martínez (2001) experimentaron con dos programas de privación parcial de alimento en ratas, seguidos de un período de libre acceso a comida y agua. Al término de los períodos de restricción observaron una alteración del patrón alimentario, caracterizado por una reducción en el consumo total de alimento y un aumento sustancial en el peso corporal durante el período de post-privación. Lo anterior concuerda con los trabajos de Díaz *et al.* (2009) y Díaz *et al.* (2010), los cuales demostraron que se produce una disminución sistemática en la ingesta como consecuencia de la reducción en el tiempo disponible para comer, durante el período de acceso.

Observaciones epidemiológicas muestran que la etiología de algunas enfermedades crónicas, como la obesidad, no solo corresponde a predisposición genética o estilo de vida adulta, sino también a las formas en los que acontecimientos de la vida temprana podrían afectar a la biología y subsiguiente comportamiento (Gluckman *et al.*, 2008). En este contexto, Maniam *et al.* (2015) señalaron que el estrés de la vida temprana afecta las respuestas metabólicas y que la elección de la dieta puede influir en el desarrollo de la enfermedad metabólica; los autores demostraron que la ingesta crónica de azúcar agrava los déficits metabólicos inducidos por el estrés de la vida temprana. En acuerdo con lo anterior, Sominsky y Spencer (2014) señalaron que el estrés de la vida temprana puede influir en el desarrollo del eje HHA, así como en la regulación de las hormonas relacionadas con la saciedad (leptina, insulina y grelina), para alterar el comportamiento de alimentación a largo plazo, concluyendo que el estrés de la vida temprana puede conducir a la modificación epigenética de glucocorticoides.

Junto con lo anterior, se ha establecido la importancia del vínculo primario madre-cría frente a condiciones

estresantes adversas. Pascual (2002) señaló que existe una relación directa entre el vínculo social madre-cría y la sensibilización frente a situaciones de estrés moderado en ratas. La interrupción temprana de este vínculo produce reducción significativa de la conducta exploratoria y cambios morfológicos neuronales a nivel frontal, asociados a disminución del árbol dendrítico y aumento en la actividad del eje HHA.

Así mismo, se ha señalado que en ratas la interrupción temprana del vínculo social madre-cría y un posterior aislamiento social induciría a un mayor perfil ansiogénico durante estados de estrés de la vida adulta (Pascual *et al.*, 2003).

De acuerdo a lo señalado, nuestra hipótesis fue que individuos sometidos a experiencias adversas tempranas y/o tardías, tienen un sistema fisiológico de respuesta al estrés alterado y, por tanto, dificultad para modular una conducta de ingesta adecuada en la vida adulta. Así, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto producido por la aplicación de diferentes modelos de alteración del vínculo social en la conducta de ingesta, en ratas de cepa Sprague Dawley, cuando son sometidas a estrés crónico intermitente en la vida adulta.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 28 ratas hembras, albinas, de la cepa Sprague-Dawley, recién nacidas, provenientes de la Unidad de Cirugía Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Chile. Fueron mantenidas en condiciones ambientales controladas respecto a temperatura, ruido ambiental y ciclo de 12h luz / 12h oscuridad. Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Guía, 2011). El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética Científico de la Universidad de La Frontera (ED11-0054). Las ratas fueron

separadas en cuatro grupos experimentales de siete animales cada uno, asignadas aleatoriamente:

Experiencia adversa temprana (E1): alteración del vínculo social madre-cría por reducción del período de lactancia. Ratas recién nacidas con 18 días de lactancia fueron separadas de su madre y mantenidas en jaula, bajo condiciones de interacción social, agua y alimento (dieta estándar) *ad libitum*, por un período de 110 días.

Experiencia adversa tardía (E2): alteración del vínculo social por aislamiento en la adultez. Ratas recién nacidas con 23 días de lactancia fueron separadas de su madre y mantenidas en jaula, bajo condiciones de interacción social, agua y alimento (dieta estándar) *ad libitum*, por un período de 80 días. Posteriormente, fueron colocadas en jaulas individuales impidiendo todo tipo de interacción social hasta completar los 110 días. Durante este período tenían acceso al agua y alimento (dieta estándar) *ad libitum*.

Experiencia adversa temprana-tardía (E3): Ratas recién nacidas con 18 días de lactancia fueron separadas de su madre y mantenidas en jaula, bajo condiciones de interacción social, agua y alimento (dieta estándar) *ad libitum*, por un período de 80 días. Posteriormente, fueron colocadas en jaulas individuales impidiendo todo tipo de interacción social hasta completar los 110 días. Durante este período tenían acceso al agua y alimento (dieta estándar) *ad libitum*.

Grupo control (C): Ratas recién nacidas con 23 días de lactancia, separadas de su madre y mantenidas en jaula, bajo condiciones de interacción social, agua y alimento (dieta estándar) *ad libitum*, por un período de 110 días.

Medición de la conducta de ingesta

Completados los 110 días de desarrollo de las ratas, durante

los siguientes seis días, los integrantes de cada grupo fueron privados de alimento por 20h diarias. Luego, al comienzo del período de oscuridad, durante un período (etapa de anticipación) de 2h (18:00-20:00) y en presencia de un estímulo visual (luz roja), se les proporcionó 50g de dieta estándar y 50g de Quaker Quadritos®, junto a 200ml de agua; a seguir fueron retirados el alimento y el agua para ser medido el consumo de éstos. Posteriormente, durante otras 2h (etapa de estrés; 20:00-22:00) se les proporcionó la misma dieta, pero esta vez en presencia del estímulo estresor. Finalizado este período, fue retirado el estímulo estresor y cuantificado el consumo de alimento y agua. Para evaluar la conducta de ingesta, se determinó el peso inicial, antes de comenzar el protocolo de estrés (día 1) y final (día 6) de los animales y el número de calorías consumidas que aporta cada gramo de la dieta.

Composición de la dieta

La dieta estándar estuvo constituida por 5% de fibras y 20% de proteínas, (3,375 cal/g) y Quaker Quadritos® lo estuvo por 4,5% de grasa, 11% de proteínas y 70% de hidratos de carbono (3,640 cal/g).

Anticipación y estrés crónico intermitente

Durante la etapa de anticipación, a cada rata se le presentó un estímulo visual (luz roja) por un período de 2h diarias, durante seis días consecutivos. Posteriormente, durante la etapa de estrés crónico intermitente, a cada rata se le aplicó un estímulo estresor (*tail pinch*), que consistió en colocar una pinza metálica ~2cm distal a la base de la cola (Katz y Roth, 1979), durante 2h diarias.

Análisis estadístico

Dado que el proceso de intervención consideró dos etapas (anticipación y estrés), los datos fueron analizados en dos momentos, al inicio del proceso de

intervención (día 1) y al final del proceso de intervención (día 6), considerando para ello cuatro análisis: el primero consideró la suma total de calorías consumidas, es decir, las calorías consumidas en la etapa de anticipación más las consumidas en la etapa de estrés; el segundo consideró el análisis de cada etapa por separado, comparando el día 1 con el día 6; el tercero consideró el análisis de las calorías totales consumidas en etapa de anticipación, comparado con la etapa de estrés; y el cuarto consideró el análisis de las calorías consumidas de dieta estándar vs Quaker Quadritos® en etapa de anticipación y estrés, para el día 1 y el día 6. El análisis estadístico se realizó con el software IBM SPSS Statistic 20 y para la comprobación de supuestos el test de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (análisis de normalidad de los datos) y la prueba de Levene (análisis de homocedasticidad). Para el análisis de las diferencias entre grupos, se utilizó el ANOVA a una vía y las pruebas *post hoc* DMS y T3 de Dunnett (según correspondía). Para el análisis de la variación en la conducta de ingesta en cada grupo (calorías consumidas el día 1 vs el día 6, etapa de anticipación vs estrés y calorías consumidas de dieta estándar vs Quaker Quadritos®), se utilizó la prueba t de student para muestras pareadas. Los p-valores fueron considerados como significativos siendo <0,05 (*) y muy significativos siendo <0,025 (**).

Resultados

El análisis de varianza (ANOVA) mostró que no hubo diferencias significativas entre la masa inicial (día 1) y la masa final (día 6) de los individuos de un mismo grupo. Sin embargo, entre los distintos grupos hubo diferencias significativas en la masa inicial ($F_{\text{calc}} = 21,766$; $p = 0,000$) y final ($F_{\text{calc}} = 3,759$; $p = 0,024$) (Figura 1).

Respecto al consumo promedio de calorías totales, es decir consumo de dieta estándar y

Quaker Quadritos® en las dos etapas, el análisis de varianza para el día 1 mostró que existe al menos un grupo que difiere de otro ($F_{\text{calc}} = 5,981$; $p = 0,003$).

Como resultado del análisis de la prueba *post hoc* DMS para el día 1, se encontraron diferencias significativas en el consumo de calorías, siendo el del grupo E1= 62,134 ±16,807 cal mayor que los grupos E3= 41,234 ±11,515cal ($p = 0,003$) y E2= 39,686 ±6,637cal; ($p = 0,001$), mientras que no hubo diferencias significativas con el grupo C= 54,737 ±9,469cal ($p = 0,249$). En el día 6, el consumo de calorías para los diferentes grupos sí mostraron diferencias, pero éstas resultaron no ser significativas ($F_{\text{calc}} = 0,521$; $p = 0,672$). El grupo E1 mantuvo una conducta de consumo similar al día 1, es decir, fue el grupo de mayor consumo, respecto de los grupos E2 y E3, se observó aumento en el consumo promedio de calorías totales para el día 6, comparadas con el día 1, siendo éstas estadísticamente significativas ($t = 4,189$; $p = 0,006$ y $t = 2,634$; $p = 0,039$; respectivamente) (Figura 2).

En el contexto de la prueba experimental de anticipación, al considerar el promedio de las calorías totales consumidas, el análisis de varianza para el día 1 mostró que existe al menos un grupo que difiere de otro ($F_{\text{calc}} = 8,371$; $p = 0,001$).

La prueba *post hoc* DMS, mostró que en el día 1, hubo mayor consumo en el grupo E1= 44,798 ±9,783cal respecto de los grupos E2= 27,217 ±7,047cal y E3= 25,710 ±8,488cal, siendo estadísticamente significativo ($p = 0,001$ y $p = 0,000$; respectivamente), y nuevamente no hubo diferencias significativas con el grupo C= 37,975 ±7,624cal. En el día 6, el mayor consumo se observó en el grupo E1= 31,686 ±3,565cal, seguido de C= 30,372 ±6,798cal, E3= 30,190 ±3,180cal y E2= 29,489 ±10,438cal. Sin embargo, las comparaciones múltiples *post hoc* no mostraron diferencias significativas entre los grupos. El grupo E1 tuvo una disminución significativa en el

consumo promedio de calorías totales, respecto del día 1 ($t = -3,039$; $p = 0,023$) (Figura 3).

Respecto al promedio de calorías totales consumidas en la etapa de estrés, el análisis de varianza mostró, tanto para el día 1 como para el día 6, que no existen diferencias significativas entre los grupos ($F_{\text{calc}} = 0,491$; $p = 0,692$).

En el día 1, el grupo de mayor consumo fue E1= 17,337 ±9,776cal y el de menor consumo fue E2= 12,469 ±6,848cal. En el día 6, nuevamente el de mayor consumo fue el grupo E1= 37,057 ±8,483cal y el de menor consumo fue C= 30,109 ±5,259cal. Al comparar el día 1 con el día 6 en cada grupo (C, E1, E2 y E3), se observó que existe un aumento significativo en el promedio de calorías totales consumidas en etapa de estrés ($t = 7,483$ y $p = 0,000$; $t = 3,089$ y $p = 0,021$; $t = 4,615$ y $p = 0,004$; y $t = 2,733$ y $p = 0,034$; respectivamente) (Figura 3).

El análisis del comportamiento de ingesta por grupo mostró que para el día 1 los grupos C, E1 y E2 presentaron un mayor consumo en la etapa de anticipación respecto a la etapa de estrés, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($t = -5,609$ y $p = 0,001$; $t = -7,263$ y $p = 0,000$; y $t = -3,196$, $p = 0,019$; respectivamente) (Figura 4). El día 6, la conducta de ingesta de los distintos grupos tendió a homologarse entre ellos; los grupos E1, E2 y E3 presentaron aumento en el consumo durante la etapa de estrés, respecto a la etapa de anticipación, sin diferencias estadísticamente significativas (Figura 4).

Es relevante destacar que para el día 1, en la etapa de anticipación hubo mayor consumo de calorías de Quaker Quadritos® que de la dieta estándar en todos los grupos, con excepción del grupo E3= 12,740 ±4,680cal, con resultados estadísticamente

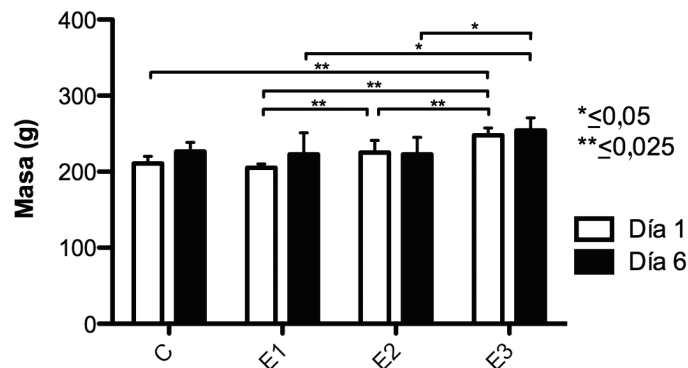


Figura 1. Masa corporal inicial y final. Promedio de masa corporal inicial y final de ratas hembra Sprague Dawley antes y después del protocolo de estrés.

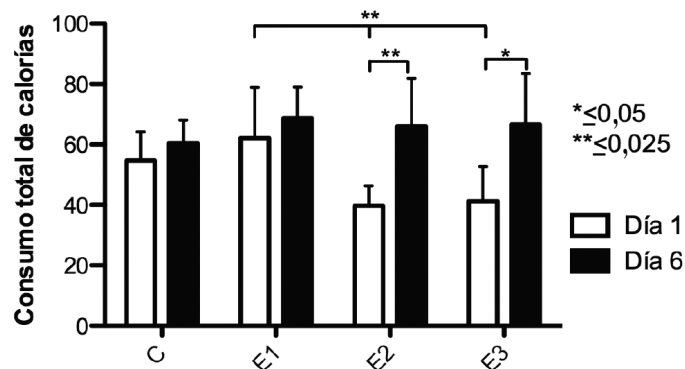


Figura 2. Total de calorías consumidas. Promedio del total de calorías consumidas por ratas hembras Sprague Dawley, sometidas previamente a experiencias adversas: temprana (E1), tardía (E2) y temprana-tardía (E3).

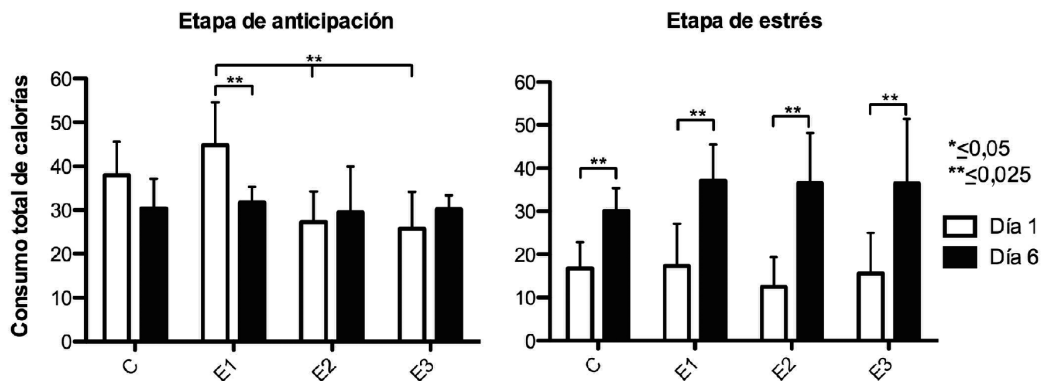


Figura 3. Calorías consumidas en etapa de anticipación y estrés. Promedio de calorías consumidas por ratas hembras Sprague Dawley, sometidas previamente a experiencias adversas: temprana (E1), tardía (E2) y temprana-tardía (E3).

significativo en los grupos C = $25,584 \pm 11,314\text{cal}$ y E1 = $34,528 \pm 12,678\text{cal}$ ($t = 2,458$ y $p = 0,03$; $t = 4,485$ y $p = 0,001$; respectivamente). Para el día 1 en la etapa de estrés también hubo mayor consumo de calorías de Quaker Quadritos® por parte de todos los grupos, destacando que el grupo de mayor consumo fue el E1 con $16,276 \pm 9,145\text{cal}$ ($t = 4,356$; $p = 0,004$) (Figura 5).

El día 6 se observó que tanto en etapa de anticipación como la de estrés, el mayor consumo de calorías en todos los grupos fue de Quaker Quadritos®, siendo estadísticamente significativo en los grupos C, E1 y E2. El consumo de Quaker Quadritos® en

etapa de anticipación del grupo C fue $27,768 \pm 7,116\text{cal}$, para E1 fue de $28,600 \pm 5,069\text{cal}$ y para E2 de $22,932 \pm 13,905\text{cal}$ ($t = 8,683$ y $p = 0,000$; $t = 12,052$ y $p = 0,000$; $t = 11,650$ y $p = 0,000$; respectivamente). El consumo de Quaker Quadritos® en etapa de estrés del grupo C fue de $28,132 \pm 5,458\text{cal}$, de E1 fue

$31,512 \pm 9,687\text{cal}$ y de E2 $29,796 \pm 14,883\text{cal}$ ($t = 5,826$ y $p = 0,000$; $t = 2,945$ y $p = 0,012$; y $t = 3,855$ y $p = 0,002$; respectivamente) (Figura 5).

Discusión

El estudio de la relación entre la alimentación y el estrés tiene una larga tradición, habiéndose desarrollado paradigmas y modelos teóricos para explicar las consecuencias que tiene en la conducta alimentaria la exposición de un individuo a diferentes clases de estresores. Al considerar el conjunto de investigaciones que intentan esclarecer cómo influye el estrés en la alimentación, pueden distinguirse al menos dos grandes modelos explicativos (Greeno y Wing, 1994), el modelo de efecto general (MEG) y el modelo de las diferencias individuales (MDI). El MEG deriva fundamentalmente de experimentación en animales, donde uno de los principales objetivos ha sido demostrar la vía fisiológica responsable de los cambios alimenticios generados por determinada clase de estrés. El MDI surgió a partir de estudios en seres humanos, y ha incluido en sus formulaciones teóricas modelos provenientes de la psicología.

En el MEG se argumenta que todo organismo enfrentado a estímulos estresores aumentará su ingesta alimentaria (Shelley, 1965) o la disminuirá (Sterritt, 1962). Aunque el efecto fisiológico del estrés se ha asociado a una respuesta incompatible con la alimentación, lo cierto es que la evidencia apunta a que el estrés crónico desencadena una cascada de reacciones fisiológicas que darían lugar a una respuesta seleccionada evolutivamente para enfrentar dicho estímulo o situación amenazante: la sobrealimentación. Bajo este contexto, nuestros resultados mostraron que el grupo control, expuesto a una situación de estrés en la adultez, aumentó el consumo total de calorías y presentó mayor masa corporal al final del protocolo de estrés.

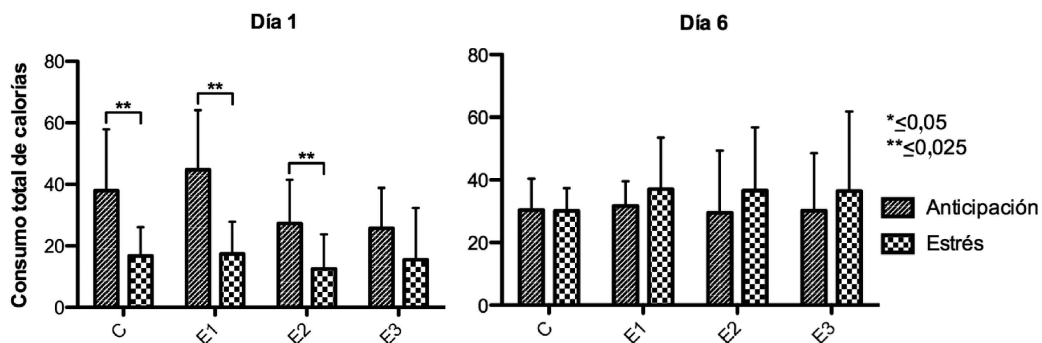


Figura 4. Calorías consumidas para el día 1 y 6. Promedio de calorías consumidas en etapa de anticipación vs etapa de estrés por ratas hembras Sprague Dawley, sometidas previamente a experiencias adversas: temprana (E1), tardía (E2) y temprana-tardía (E3).

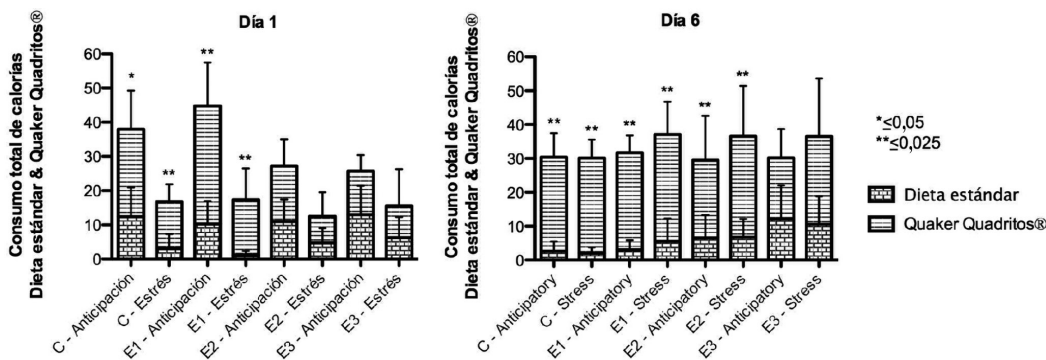


Figura 5. Calorías consumidas de dieta estándar y Quaker Quadritos® para los días 1 y 6. Promedio de calorías consumidas de dieta estándar y Quaker Quadritos® en etapa de anticipación versus estrés por ratas hembras Sprague Dawley, sometidas previamente a experiencias adversas: temprana (E1), tardía (E2) y temprana-tardía (E3).

Por su parte, según la aproximación MDI, aquellos sujetos con cierto tipo de vulnerabilidad por efectos de experiencias adversas aumentarían su ingesta de alimentos en condiciones de estrés. Así, nuestros resultados mostraron que el grupo sometido a experiencia adversa temprana, es decir, alteración del vínculo social madre-cría por reducción del período de lactancia (E1), presentó el mayor consumo promedio de calorías totales para los días 1 y 6, tanto en anticipación como estrés, lo que se vio reflejado en un aumento de masa corporal finalizado el protocolo de estrés crónico intermitente. Estos hallazgos son coherentes con estudios que muestran que la interrupción temprana del vínculo social madre-cría en ratas produce sensibilización al estrés moderado y aumento de ingesta diaria de alimento en la vida adulta (Pascual, 2002; Pascual *et al.*, 2003).

Los presentes resultados concuerdan con estudios realizados en humanos que muestran que la exposición a eventos traumáticos durante la infancia se asocia con un riesgo elevado de obesidad en el adulto (Gluckman *et al.*, 2008; D'Argenio *et al.*, 2009). Así, los individuos con estilos afectivos vulnerables experimentan emociones asociadas al sistema motivacional sensibilizado y necesidad permanente de regular los afectos negativos (Silva, 2008a).

Por otra parte, el entorno social puede ser estudiado como una fuente de estrés. Cruz (2003) observó que la privación social en ratas adultas genera ansiedad. Coccorello *et al.* (2009), Dallman *et al.* (2006) y Dallman (2009) han señalado que el estrés social crónico en roedores afecta a los sistemas de recompensa del cerebro, el procesamiento de la motivación y aumenta la prominencia de incentivo de alimentos energéticos, permitiendo al animal estresado crónicamente reducir las amenazas en un entorno hostil. Los resultados de nuestro estudio confirman lo señalado anteriormente. Los grupos sometidos a

experiencia adversa tardía por aislamiento en la adultez (E2) y experiencia adversa temprana-tardía (E3), tuvieron un aumento significativo en el consumo promedio de calorías totales para el día 6, comparado con el día 1, sin diferencias significativas con el grupo E1, lo que indicaría, de acuerdo a lo señalado por Bartolomucci *et al.* (2009), que si bien no son los grupos de mayor consumo total de calorías, también presentaron características de vulnerabilidad al estrés.

Es importante destacar que los resultados de las investigaciones sobre los efectos de la exposición repetida al estrés social están lejos de ser compatibles entre sí. El nivel de ansiedad es modulado por eventos amenazantes que desencadenan respuestas fisiológicas de estrés. En este contexto, algunos individuos son más reactivos a tales eventos, por lo que presentan mayor tendencia a sufrir de ansiedad. Esta predisposición individual se ha vinculado a la historia de estrés del sujeto, en la que parece cobrar importancia el tipo de agente estresante, su duración y la etapa de la vida en la que se sufrió (Silva, 2008b). En el presente estudio, los integrantes del grupo E2 fueron criados socialmente y aislados a los 80 días de nacidos durante 30 días para, posteriormente, evaluar la conducta de ingesta bajo una situación de estrés físico. Por lo tanto, la discordancia observada con los resultados de Cárdenas-Villalvazo *et al.* (2010) podría deberse a que estos autores utilizaron un modelo de estrés social por aislamiento en una especie diferente (ratas Wistar) y en una etapa de desarrollo distinto a nuestro modelo experimental.

Respecto a la conducta de ingesta observada por grupo para el día 1, los resultados mostraron que hubo mayor consumo en etapa de anticipación que en etapa de estrés, con diferencias significativas para los grupos C, E1 y E3 ($t = -5,609$ y $p = 0,001$; $t = -7,263$ y $p = 0,000$; y $t = -3,196$ y $p = 0,019$; respectivamente). Estos resultados podrían deberse,

según las evidencias de estudios anteriores (López-Espinoza y Martínez, 2001; Díaz-Reséndiz, *et al.*, 2009; Díaz *et al.*, 2009, 2010), a que el período de anticipación en el día 1, es el primer momento de libre acceso a los alimentos después del período de restricción de 20h. Así, el efecto de la privación de alimentos, el tiempo de duración de la privación y el tiempo de acceso a los alimentos son factores importantes a considerar.

Sin embargo, los resultados de la conducta de ingesta de los distintos grupos para el día 6 tendieron a homologarse entre ellos; los grupos experimentales E1, E2 y E3 presentaron un leve aumento en el consumo durante la etapa de estrés, respecto a la etapa de anticipación, pese a que la etapa de anticipación fue el primer momento de acceso a la comida después de la privación por 20h. Una de las explicaciones a lo observado es que se puede deber a que los animales fueron expuestos diariamente, por un período de seis días, al estímulo estresor (*tail pinch*), lo que facilita la posibilidad de predecir la llegada del estímulo y por tanto, aumentar el consumo de alimentos para reducir los efectos del estrés (Torres-González *et al.*, 2009).

Respecto al tipo de alimento consumido, la literatura señala que las características propias de éstos, tales como, sabor, textura, olor y cantidad de grasa determinan la preferencia y cantidad de alimento consumido por las ratas (Galindo y Lopez-Espinoza, 2006; Díaz-Reséndiz *et al.*, 2009). Nuestros resultados concuerdan con esto, ya que independiente del grupo al que pertenezcan, consumieron más calorías de alimentos palatables (Quaker Quadritos®) que dieta estándar.

Sin embargo, cabe destacar que bajo situación de estrés crónico, es decir cumplidos los seis días de aplicación del estímulo estresor en el período de adultez, el consumo total de calorías de Quaker Quadritos® fue mayor en los grupos E1 y E2 que en el grupo C. Estos resultados se correlacionan

positivamente con estudios que señalan que cuando el estrés permanece constante a través del tiempo, influencia las hormonas del eje HHA con aumento en los niveles plasmáticos de los glucocorticoides, produciendo efectos directos e indirectos sobre el sistema de recompensa (Pecoraro *et al.*, 2004). Por otra parte, de acuerdo a lo señalado por Teegarden y Bale (2008) y Maniam *et al.* (2014, 2015) el aumento de la sensibilidad al estrés, como es el caso de los grupos E1 (experiencia adversa temprana) y E2 (experiencia adversa tardía), puede predisponer aún más hacia el equilibrio energético alterado, con el subsecuente aumento en la ingesta de alimentos altamente sabrosos.

Lo expuesto sugiere que la respuesta al estrés que tenga un individuo a una situación en particular estará influenciada por las estrategias de afrontamiento, es decir, por el repertorio conductual utilizado por el sujeto para escapar de la fuente de estrés o para reducir el impacto de la situación (Torres-González *et al.*, 2009). Así, los miembros de una misma especie que han sido expuestos a experiencias adversas desarrollarán mecanismos conductuales y biológicos distintos para enfrentar las situaciones estresantes en el contexto de la alimentación, respecto de los individuos que no han sido expuestos (Troisi *et al.*, 2005; Stenhammar *et al.*, 2010).

Por otro lado, consideramos pertinente señalar que los resultados obtenidos cuentan con un poder estadístico de 89 a 100%, y tamaños del efecto desde 0,5 a 9, lo que nos indicaría que nuestro número de muestra permite afirmar lo encontrado con una baja probabilidad de cometer error tipo II (Álvarez-Cáceres, 2007).

Finalmente, es posible concluir que las experiencias adversas temprana y tardía son factores que influyen en las estrategias de afrontamiento ante una situación de estrés, favoreciendo mayor consumo de calorías y elección por alimentos palatables o sabrosos. Es importante considerar que

el consumo de calorías fue mayor cuando la experiencia adversa fue vivida a temprana edad (vulnerabilidad al estrés) reflejando un bajo umbral de activación de la ansiedad y, por tanto, también mayor consumo de calorías en la etapa de anticipación. Podemos concluir, además, que el estrés crónico intermitente (*tail pinch*) produce aumento en el consumo de calorías totales, siendo mayor en individuos sometidos a experiencias adversas.

En acuerdo con estas conclusiones, el estudio de la relación entre el ambiente y la conducta de ingesta permite sugerir que la relación entre estas variables no puede ser ignorada cuando se intenta explicar el patrón alimentario de un individuo. Además, se debe considerar que los efectos del estrés por experiencias adversas pueden ser mejorados mediante enriquecimiento ambiental en ratas post-destete (Francis *et al.*, 2002), por lo cual se hace necesario seguir explorando en futuras investigaciones el rol de la epigenética en la conducta de ingesta.

REFERENCIAS

- Adzic M, Djordjevic J, Djordjevic A, Niciforovic A, Demonacos C, Radojic M, Krstic-Demonacos, M (2009) Acute or chronic stress induce cell compartment-specific phosphorylation of glucocorticoid receptor and alter its transcriptional activity in Wistar rat brain. *J. Endocrinol.* 202: 87-97.
- Álvarez-Cáceres R (2007) *Estadística Aplicada a las Ciencias de la Salud*. Díaz de Santos, Madrid, España. 517-519 pp.
- Bartolomucci A, Cabassi A, Govoni P, Ceresini G, Cero C, Berra D, Dadomo H, Franceschini P, Dell'Omo G, Parmigiani S, Palanza P (2009) Metabolic consequences and vulnerability to diet-induced obesity in male mice under chronic social stress. *PLoS ONE* 4: e4331.
- Cárdenas-Villalvazo A, López-Espinoza A, Martínez A, Franco K, Díaz F, Aguilera V, Valdez E (2010) Consumo de alimento, crecimiento y ansiedad, tras estrés por hacinamiento o aislamiento de ratas. *Rev. Mex. Anál. Cond.* 36: 129-142.
- Coccorello R, D'Amato FR, Moles A (2009) Chronic social stress, hedonism and vulnerability to obesity: Lessons from rodents. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 33: 537-350.
- Cruz D (2003) Efecto de la privación social en la agresión y la ansiedad de ratas machos Wistar. *Acta Col. Psicol.* 9: 39-49.
- Dallman MF (2009) Stress-induced obesity and the emocional nervous system. *Trends Endocrinol. Metab.* 21: 159-165.
- Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE, Warne JP, Ginsberg A, Akana S (2006) Glucocorticoids, chronic stress, and obesity. *Progr. Brain Res.* 153: 75-105.
- D'Argenio A, Mazzi M, Pecchioli L, Di Lorenzo G, Siracusan A, Troisi, A (2009) Early trauma and adult obesity: Is psychological dysfunction the mediating mechanism? *Physiol. Behav.* 98: 543-546.
- Davis C, Strachan S, Berkson M (2004) Sensitivity to reward: implications for overeating and overweight. *Appetite* 42: 131-138.
- Díaz F, López-Espinoza A, Franco K, Martínez A, Aguilera V, Cárdenas A (2009) Efectos del periodo de privación de alimento sobre la tasa de comer en ratas. *Rev. Mex. Anál. Cond.* 35: 149-160.
- Díaz F, García K, Navarro L, Franco K, Valdés E, Beltrán-Miranda CP (2010) Effect of deprivation on food intake in female rats. *Rev. Mex. Anál. Cond.* 36: 169-183.
- Díaz-Reséndiz F, Franco-Paredes K, Martínez-Moreno A (2009) Efectos de variables ambientales sobre la ingesta de alimento en ratas: una revisión histórico-conceptual. *Univ. Psychol.* 8: 519-532.
- FAO (2002) *Agricultura Mundial: Hacia los Años 2015/2030. Informe Resumido*. FAO, Roma, Italia. www.agronomiauct.cl/vertxtl.php?cod=88
- Francis DD, Diorio J, Plotsky PM, Meaney MJ (2002) Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. *J. Neurosci.* 22: 7840-7843.
- Galindo A, Lopez-Espinoza A (2006) Efecto del sabor y contenido calórico del agua sobre la conducta alimentaria durante un período de privación de comida en ratas albinas. *Rev. Mex. Anál. Cond.* 32: 95-109.
- Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N. Engl. J. Med.* 359: 61-73.
- Guía (2011) *Guide for the Care and Use of Laboratory animals*. 8^a ed. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / Institute for Laboratory Animal Research / Division on Earth and Life Studies / National Research Council. National Academies Press, Washington, DC, EEUU. 41-124 pp.
- Katz RJ, Roth K (1979) Tail pinch induced stress-arousal facilitates brain stimulation reward. *Physiol. Behav.* 22: 193-194.
- Kumar J, Chuang J, Na E, Kuperman A, Gillman A, Mukherjee S, Zigman J, McClung C, Lutter M (2013) Differential effects of chronic social stress and fluoxetine on meal patterns in mice. *Appetite* 64: 81-88.
- López-Espinoza A, Martínez H (2001) Efectos de dos programas de privación parcial sobre el peso corporal y el consumo total de agua y comida en ratas. *Acta Comportam.* 9: 5-17.
- Maniam J, Antoniadis CP, Morris MJ (2014) Early-life stress, HPA axis adaptation, and mechanisms contributing to later health outcomes. *Front. Endocrinol.* 5: 73.
- Maniam J, Antoniadis CP, Morris MJ (2015) The effect of early-life stress and chronic high-sucrose diet on metabolic outcomes in female rats. *Stress* 18: 524-537.
- OMS/FAO (2003) *Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas. Informe de una Consulta Mixta de Expertos OMS/FAO*. Ginebra, Suiza. 26 pp.
- Pascual R (2002) La interrupción temprana del vínculo social altera la organización citoarquitectónica y expresión de neuropéptidos en la corteza prefrontal. *Rev. Chil. Neuropsiquiatr.* 40: 9-20.
- Pascual R, Catalán M, Fuentealba M (2003) Rasgos de ansiedad y alteraciones neuronales en la corteza prefrontal medial, ocasionadas por experiencias adversas tempranas. *Rev. Chil. Neuropsiquiatr.* 41: 201-211.
- Pecoraro N, Reyes F, Gomez F, Bhargava A, Dallman MF (2004) Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinol.* 145: 3754-3762.
- Shelley HP (1965) Eating behavior: Social facilitation or social inhibition? *Psychon. Sci.* 3: 521-522.
- Silva JR (2008a) Sobrealimentación inducida por la ansiedad. Parte II: Un marco de referencia neurocientífico para el desarrollo de técnicas psicoterapéuticas y programas de prevención. *Terap. Psicol.* 26: 99-115.
- Silva JR (2008b) Restricción alimentaria y sobrealimentación, un modelo de la neurociencia afectiva. *Rev. Med. Chil.* 136: 1336-1342.
- Sominsky L, Spencer SJ (2014) Eating behavior and stress: a pathway to obesity. *Front. Psychol.* 5: 434.
- Stenhammar C, Olsson GM, Bahmanyar S, Hulting AL, Wettergren B, Edlund, B, Montgomery SM (2010) Family stress and BMI in young children. *Acta Paediatr.* 99: 1205-1212.
- Sterritt GM (1962) Inhibition and facilitation of eating by electric shock. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 55: 226-229.
- Teegarden SL, Bale TL (2008) Effects of stress on dietary preference and intake are dependent on access and stress sensitivity. *Physiol. Behav.* 93: 713-723.
- Terracciano A, Sutín AR, McCrae RR, Deiana B, Ferrucci L, Schlessinger D, Uda M, Costa P (2009) Facets of personality linked to underweight and overweight. *Psychosom. Med.* 71: 682-689.
- Torres-González C, López-Espinoza A, Martínez A, Franco K, Díaz F, Sosa GA, Aguilera V, Magaña CR, Cárdenas A (2009) Consumo de alimentos y endulzantes bajo condiciones de estrés crónico en ratas. *Rev. Mex. Anál. Cond.* 35: 133-147.
- Troisi A, Massaroni P, Cuzzolaro M (2005) Early separation anxiety and adult attachment style in women with eating disorders. *Br. J. Clin. Psychol.* 44: 89-97.