
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

**INFLUENCIA DE LA SUBNUTRICIÓN PROTEICO-CALÓRICA
TRANSGENERACIONAL SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA DESCENDENCIA EN
LA RATA (*Rattus norvegicus albinus* VAR. WISTAR). UN ESTUDIO DE
ANTROPOLOGÍA BIOLÓGICA EXPERIMENTAL.**

**INFLUENCE OF PROTEIN-CALORIC TRANSGENERATIONAL
UNDERNUTRITION ON THE OFFSPRING GROWTH IN THE RAT (*Rattus
norvegicus albinus* VAR. WISTAR). AN EXPERIMENTAL PHYSICAL
ANTHROPOLOGY STUDY.**

Autor: María Florencia CESANI

Director: Dr. Héctor Mario PUCCIARELLI (Facultad de Ciencias Naturales y Museo - Universidad Nacional de La Plata).

Codirector: Dra. Evelia Edith OYHENART (Facultad de Ciencias Naturales y Museo - Universidad Nacional de La Plata).

Lugar: Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP- CCT La Plata-CONICET – Universidad Nacional de La Plata.

Fecha de defensa: 8 de octubre de 2004.

E-mail: mfcesani@fcnym.unlp.edu.ar

RESUMEN

Los factores “generacionales o transgeneracionales” son definidos como el conjunto de condiciones de naturaleza ambiental experimentados por una generación que inciden sobre la salud, el crecimiento y el desarrollo de las generaciones siguientes. La forma prevalente de desnutrición en poblaciones humanas se caracteriza por su naturaleza crónica y generacional y por lo tanto las deficiencias nutricionales pueden considerarse factores transgeneracionales.

Numerosas poblaciones del mundo viven inmersas en un ambiente con nutrición deficiente y desbalanceada durante muchas generaciones. Un ejemplo son las llamadas “villas de emergencia” muy comunes en nuestro país, donde los recursos económicos son escasos, el saneamiento es muy pobre y los niños consumen dietas con insuficiente contenido proteico. La problemática generacional se torna aún más relevante cuando además de estudiar los efectos que este tipo de estrés puede ejercer a largo plazo, se analiza el alcance que los programas de rehabilitación tienen sobre el crecimiento y desarrollo de las poblaciones afectadas. Por otra parte, algunos autores sostienen la idea de un posible efecto acumulativo de la desnutrición generacional, hecho que se reflejaría en el deterioro progresivo de las sucesivas generaciones.

Dada la multiplicidad de factores que definen el ambiente bio-físico-sociocultural en el que las poblaciones humanas crecen y se desarrollan, no es posible analizar los efectos que un único factor –tal como el nutricional- puede tener a través de varias generaciones. En tal sentido, los trabajos experimentales resultan de gran importancia, puesto que permiten aislar el factor que se desea estudiar y analizar su efecto sobre numerosas generaciones en un corto tiempo.

El objetivo general del trabajo de tesis, fue analizar la existencia de cambios seculares del crecimiento craneano y postcraneano generados por el efecto de la subnutrición transgeneracional. La

hipótesis de nulidad a contrastar fue: "Cuando la desnutrición actúa con intensidad constante en varias generaciones, el retardo de crecimiento es no acumulativo".

Se trabajó con ratas de laboratorio de la especie *Rattus norvegicus albinus* (cepa Wistar) proveniente de una colonia del bioterio del Instituto de Genética Veterinaria IGEVET, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP-CCT La Plata-CONICET).

Se conformaron los siguientes grupos experimentales:

1. Control (generación parental, P), animales que durante todo el experimento (21 a 100 días de edad) recibieron alimento balanceado ad libitum.
2. Subnutridos, animales que a partir del destete recibieron el 75% del alimento consumido por un animal control de su misma edad, sexo y peso corporal (técnica de pair feeding). Al alcanzar la madurez sexual (80 días de edad aproximadamente) las hembras fueron colocadas en apareo con machos del grupo 1. Las crías nacidas de estas madres constituyeron la primera generación subnutrida (F1): durante la lactancia las madres recibieron alimento balanceado ad libitum y al destete las crías fueron subdivididas en dos grupos que fueron pesados diariamente y recibieron el 75% del alimento consumido por un animal control: (a) el grupo de animales propiamente experimentales y (b) las hembras destinadas a proveer animales de la siguiente generación o segunda generación subnutrida (F2). Este grupo recibió el mismo tratamiento que la generación F1.

Aproximadamente 10 machos y 10 hembras, de cada grupo generación (P, F1 y F2) fueron radiografiados en normas lateral y dorsal a los 21, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 días de edad. Sobre cada placa radiográfica, se realizó un relevamiento métrico del cráneo y del esqueleto postcraneal. El análisis craneano se realizó siguiendo un criterio funcional, que incluyó tres niveles de integración: complejo craneofacial, componentes mayores (neurocraneano y facial) y subcomponentes (neural anterior, neural medio, neural posterior, ótico, masticatorio, respiratorio y alveolar). Con los datos se calcularon índices volumétricos y morfométricos. El relevamiento métrico postcraneano se focalizó en los ejes axial (longitud corporal) y apendicular (femoral y humeral).

El procesamiento estadístico consistió en: (1) prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, (2) test paramétrico de análisis de la varianza (ANOVA) y pruebas post hoc LSD (Least Square Differences) para las variables postcraneanas y (3) tests no paramétricos de Kruskal-Wallis (K-W) y Kolmogorov-Smirnov (K-S) para k muestras, para las variables craneanas. Se analizaron los cambios ocurridos en cada generación subnutrida (efecto intrageneracional P-F1 y P-F2) y aquellos ocurridos entre las generaciones subnutridas (F1-F2).

Los resultados obtenidos indicaron que:

(a) La subnutrición intrageneracional, provoca:

(a1) Retardos del crecimiento ponderal y óseo en ambos sexos. El peso se ve más comprometido que la longitud corporal, provocando retardo de crecimiento de tipo asimétrico.

(a2) Cambios de tamaño y forma del complejo craneofacial, producto de la reducción volumétrica diferencial de los componentes mayores y menores. El neurocráneo es afectado en mayor medida que el esplancocráneo y el neural anterior, ótico y masticatorio que el resto de los subcomponentes.

(b) La subnutrición transgeneracional provoca:

(b1) Retardo acumulativo del crecimiento ponderal y óseo (excepto la longitud humeral) en ambos sexos, con modificación de la forma corporal. El peso se ve más comprometido que la longitud corporal.

(b2) Reducción volumétrica acumulativa en ambos componentes mayores con un deterioro progresivo conforme los animales crecen.

(b3) Comportamiento diferencial de los subcomponentes craneanos, reflejando respuestas adaptativas a demandas funcionales específicas. Mientras que los machos no evidencian cambios morfométricos

transgeneracionales, las hembras presentan una reducción volumétrica neural mayor en la segunda generación. La variación alométrica observada se debe a un crecimiento relativo menor de los subcomponentes neurales medio, posterior y respiratorio.

(c) En condiciones de normnutrición, hay diferencias sexuales tanto del crecimiento ponderal como del lineal, en este caso los machos son de mayor tamaño que las hembras. La subnutrición modifica estos patrones de diferenciación por cuanto los machos en general presentan mayor retardo de crecimiento que las hembras. Esta resistencia de las hembras por mantenerse en el canal de crecimiento, se ve reflejada también en una manifestación más tardía del efecto acumulativo transgeneracional.

(d) Las diferencias observadas entre grupos generacionales son indicativos de la presencia de tendencia secular negativa y demuestran la existencia de patrones de crecimiento específicos en cada generación.

De los resultados expuestos, se concluye que: cuando la desnutrición actúa con intensidad constante durante varias generaciones, el retardo de crecimiento es acumulativo. Los estudios nutricionales transgeneracionales permiten analizar procesos adaptativos, y por ende evolutivos, específicos de las poblaciones humanas. Aunque estos resultados experimentales no sean directamente extrapolables al hombre, resultan de fundamental importancia para avanzar en el conocimiento de la tendencia secular negativa en poblaciones humanas.

Palabras clave: desnutrición generacional, crecimiento, antropología experimental.

ABSTRACT

The “generational or transgenerational” factors are defined as the set of conditions of environmental nature experienced by a generation that affect the health, growth and development of the next. The prevalent form of undernutrition in human populations is characterized by its chronic and generational nature, and therefore the nutritional deficiencies can be considered as transgenerational factors.

Numerous populations of the world live immersed in an environment with deficient and unbalanced nutrition during many generations. As an example the so-called “shanty towns” are very common in our country, where the economic resources are little, the cleaning is very poor and the children consume diets with insufficient protein content. The generational problematic becomes still more relevant when, besides studying the effects that this type of stress can exert in the long term, the extent that rehabilitation programs have on the growth and development of the affected populations is analyzed. On the other hand, some authors support the idea of a possible cumulative effect of the generational undernutrition, a fact that would be reflected in the progressive growth retardation of the successive generations.

Given the multiplicity of factors that define the bio-physical-sociocultural environment in which the human populations grow and develop, is not possible to analyze the effects that a unique factor - as the nutritional factor- may have through several generations. In such sense, experimental works are of great importance, since they allow isolating the factor that is desired to study and to analyze its effect on numerous generations in a short time.

The general aim of the thesis' work was to analyze the existence of secular changes of the cranial and postcranial growth generated by the effect of the transgenerational undernutrition. The null hypothesis to contrast was: “When the undernutrition acts with constant intensity in several generations, the growth retardation is noncumulative”

Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*) raised at the Bioterio of the Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP-CCT La Plata) were used.

The following experimental groups were set up:

1. Control (parental generation, P), animals that throughout the experiment (21 to 100 days of age) received stock diet ad libitum.
2. Undernourished, female rats that since weaning were submitted to nutritional restriction (75% of daily food intake of a control dam aged-matched, pair feeding technique). When reaching sexual maturity (80 days old, approximately) females were placed to mate overnight with males from group 1. Pups born from these mothers constituted the first undernourished generation (F1): during lactation dams received stock diet ad libitum. At weaning the pups were subdivided in two groups that were weighted daily and received 75% of the food eaten by their control peers: (a) the properly experimental animal group and (b) the females destined to provide animals for the following generation or second undernourished generation (F2). This group received same treatment as generation F1.

Approximately 10 males and 10 females, of each generation group (P, F1 and F2) were X-rayed in lateral and dorsal planes at 21, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 and 100 days of age. Metric measurements of the skull and the postcranial skeleton were performed on each radiographic plate.

The cranial analysis was made following a functional criterion, which included three levels of integration: neurocranial craniofacial complex, major components (neurocranium and face) and subcomponents (anterior-neural, middle-neural, posterior-neural, otic, masticatory, respiratory and alveolar).

Volumetric and morphometric indices were calculated from data. The metric postcranial measurements were focused in the axial (body length) and appendicular axes (femoral and humeral).

The statistical processing consisted of: (1) Kolmogorov-Smirnov test of goodness of fit, (2) Parametric test of variance analysis (ANOVA) and tests post hoc LSD (Least Square Differences) for the postcranial variables, and (3) Kruskal-Wallis (K-W) and Kolmogorov-Smirnov (K-S) tests for k samples, for the cranial variables. Changes occurred in each undernourished generation (intragenerational effect P-F1 and P-F2) and those occurred between undernourished generations were analyzed (F1-F2).

Results obtained showed that:

(a) Intragenerational undernutrition produces:

(a1) Retardations of the ponderal and bone growth in both sexes. The weight is more affected than the body length, causing growth retardation of asymmetric type.

(a2) Changes of size and form of the craniofacial complex, product of the differential volumetric reduction of the major and minor components. Neurocranium is affected in a greater extent than the splanecranium and the anterior, otic and masticatory than the rest of the subcomponents.

(b) Transgenerational undernutrition produces:

(b1) Cumulative retardation of the ponderal and bone growth (except for the humeral length) in both sexes, with modification of the body shape. The weight is more affected than the body length.

(b2) Cumulative volumetric reduction on both major components with a progressive deterioration as the animals grow.

(b3) Differential behavior of the cranial subcomponents, reflecting adaptive answers to specific functional demands. Whereas the males do not demonstrate transgenerational morphometric changes, the females do present a greater neural volumetric reduction in the second generation. The observed allometric variation must be due to a smaller relative growth of the anterior-neural, posterior-neural and respiratory subcomponents.

(c) In normonutrition conditions, there are sexual differences both in the ponderal and in the linear growth. In this case the males were greater than the females. Undernutrition modifies these patterns of differentiation inasmuch males in general present greater growth retardation than females. This resistance of the females to stay in the growth channel is also reflected in one more delayed manifestation of the transgenerational cumulative effect.

(d) The differences observed between generational groups are indicative of the presence of negative secular trend and demonstrate the existence of specific growth patterns in each generation.

Of the exposed results, it is concluded that: when the undernutrition acts with constant intensity during several generations, the growth retardation is cumulative. The transgenerational nutritional studies allow to analyze adaptive processes, and therefore evolutionary, specific of the human populations. Although these experimental results cannot be directly extrapolated to man, they are of fundamental importance to advance in the knowledge of the negative secular trend in human populations.

Keywords: generational undernutrition, growth, experimental anthropology.