

INFLUENCIA DE LA ALIMENTACION DURANTE LA LACTANCIA SOBRE LA DESNUTRICION INTERGENERACIONAL. UN ESTUDIO EXPERIMENTAL

María F. Cesani¹

Alicia B. Orden¹

Mariel Zucchi¹

Evelia E. Oyhenart¹

María C. Muñe¹

Héctor M. Pucciarelli¹

PALABRAS CLAVE: Crecimiento, Efecto transgeneracional, Antropobiología experimental

RESUMEN: La subnutrición puede considerarse como un factor intergeneracional importante en los estudios antropobiológicos de crecimiento, en la medida que puede afectar a los descendientes de sucesivas generaciones de una población sometida en estrés nutricional crónico. El objetivo del presente estudio es determinar, por medio de la experimentación, el efecto de la suplementación lactacional sobre el peso corporal en dos generaciones de ratas subnutridas. La generación parental (P) fue constituida por crías cuyas madres fueron normonutridas durante todo el experimento. Las generaciones F1 y F2 estuvieron conformadas por crías cuyas madres fueron subnutridas desde el destete, incluyendo el período de gestación. A partir del nacimiento de las crías, las madres fueron alimentadas ad libitum con dieta stock. Cada semana, madres y crías fueron

1. Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC296. B1900AVW La Plata, Argentina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina. e-mail: mfcسانی@musco.fcnyu.unlp.edu.ar

pesadas y fue registrado el consumo alimentario de las madres para calcular la ingesta alimentaria relativa (RFI). Los resultados indican que la subnutrición intergeneracional provocó una reducción del peso corporal de las madres y de las crías al nacimiento. La suplementación nutricional materna posibilitó la recuperación del peso corporal de las madres pero no el de las crías, pues éstas no alcanzaron los valores control. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* 3(1): 101-111, 2001.

KEY WORDS: Growth, Transgenerational effect, Experimental anthropobiology

ABSTRACT: Undernutrition is regarded as an intergenerational factor when it acts on successive generations. The aim of the present study is to set the effect of the supplementation through suckling on body weight in two generations of undernourished rats. Control dams were fed on ad-libitum during all the experiment, and their offspring was the parental (P) generation. The F1 and F2 pups came from dams underfed from weaning to pregnancy. After birth, the dams were fed ad libitum up to the end of the experiment. They and their offspring were weighted weekly, the maternal food intake was recorded, and the Relative Food Intake (RFI) was calculated. The transgenerational undernutrition reduced body weight at birth. The nutritional supplementation of the dams, allowed them to restore body weight, but not the F1 and F2, that failed to reach the control level values. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* 3(1): 101-111, 2001.

INTRODUCCION

Numerosas poblaciones con condiciones socioeconómicas adversas reflejan la llamada "desnutrición oculta". Los niños de estas poblaciones presentan retardo del crecimiento óseo, asociado a deficiencias en la masa muscular e incrementos de la grasa subcutánea (Guimarey et al., 1995). En razón de la cronicidad de las condiciones de pobreza, es factible suponer que la desnutrición oculta sea producto de un factor nutricional intergeneracional. Los factores intergeneracionales pueden definirse como el conjunto de condiciones ambientales experimentadas por una generación que influyen sobre la salud, el crecimiento y el desarrollo de la generación siguiente (Emanuel, 1986). Se ha demostrado que los efectos provocados por la desnutrición pueden perdurar mas allá del período en que ésta ocurrió (Kenney y Barton, 1975). En estudios realizados en seres humanos, se halló una correlación positiva entre peso materno al nacimiento y peso corporal de la descendencia (Coutinho et al., 1997; Emanuel, 1997). A nivel experimental, Cowley y Griesel (1966) y Stewart et al. (1973) entre otros, informaron que la desnutrición crónica provoca un deterioro gradual del crecimiento en generaciones sucesivas.

Se estima que un tercio de la población infantil proveniente de países subdesarrollados presenta baja estatura para la edad (Darnton-Hill y Coyne, 1998). Dada la elevada prevalencia de desnutrición en el mundo, la rehabilitación nutricional adquiere especial relevancia epidemiológica y bioantropológica. Con el presente estudio se pretende demostrar si una suplementación nutricional materna durante la lactancia, puede inhibir el reconocido efecto intergeneracional que según diversos autores (Zamenhof et al., 1971; Stewart et al., 1975; Galler, 1980; Hoet et al., 1997), se manifiesta sobre el peso corporal de la descendencia.

MATERIAL Y METODOS

Población y diseño experimental

Se trabajó con ratas Wistar (Rattus norvegicus albinus) de ambos sexos provenientes del Bioterio del Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA). Fueron asignadas a dos tratamientos (Tabla 1): Control (Generación P): constituido por crías cuyas madres recibieron -tanto en la postlactancia como durante la preñez- dieta stock ad-libitum; Subnutrición moderada (Generaciones F1 y F2): constituida por crías cuyas madres recibieron -durante la postlactancia y la preñez- el 75% del alimento diario consumido por una madre control de la misma edad, bajo la técnica de “pair-feeding” (Orden, 1997). Durante la lactancia las madres de ambos grupos recibieron dieta stock ad-libitum. Madres y crías fueron pesadas a las edades lactacionales de 1, 7, 14 y 21 días. A cada edad lactacional se registró el consumo alimentario materno y se calculó el índice alimentario relativo (RFI), que describe el porcentaje de alimento diario ingerido por unidad de peso corporal, según la fórmula $RFI = (mg/g) = CA / PM$; donde CA: consumo alimentario materno diario en miligramos y PM: peso corporal materno en gramos (Orden et al., 1999).

Análisis de datos

Por tratarse de un estudio longitudinal, se realizó un análisis repetitivo de la varianza (RANOVA). En este diseño, una misma variable es medida n veces sobre el mismo sujeto, testeando los cambios ocurridos dentro de cada individuo de cada generación (efecto intra-sujeto) y entre distintos grupos (efecto inter-sujeto). Los contrastes polinomiales fueron calculados para medir la diferencia del modelo de crecimiento (lineal, cuadrático, etc.) de una variable por cada generación. Las pruebas post-hoc (comparaciones intergeneracionales) fueron realizadas mediante el test de Bonferroni, diferenciando por sexo. Las diferencias porcentuales entre medias (PDM) fueron calculadas a los efectos de estandarizar las diferencias según la fórmula $PDM = 100 * (X_1 - X_2) / X_1$, siendo X_1 : media del grupo 1 y X_2 : media del grupo 2. Para el procesamiento de datos se emplearon los programas SYSTAT 9.0 y SPSS 7.5.

RESULTADOS

El análisis multivariado de mediciones repetitivas para el factor edad lactacional, así como su interacción con sexo y generación, indicó diferencias significativas en todas las variables independientes, siendo excepción la interacción de segundo orden sobre el peso de las crías (Tabla 2).

El análisis inter-sujeto, indicó diferencias significativas para los factores sexo y generación sobre peso de las crías y para el factor generación sobre peso materno y RFI. El efecto intra-sujeto fue significativo para el factor edad lactacional y para la interacción edad lactacional*generación, en las tres variables, mientras que la interacción edad lactacional*sexo*generación lo fue sólo en peso de las crías (Tabla 3). El contraste polinomial lineal explicó la casi totalidad de la varianza en peso de las crías (98.9%) y la mayoría del peso y RFI maternos (92.7% y 98.5%, respectivamente). La ecuación cuadrática explicó un 0.9 % de la varianza del peso de las crías, un 7 % del peso materno y un 1.5 % del RFI, mientras que la cúbica explicó los porcentajes mínimos restantes (Tabla 3).

En la generación P, las crías de ambos sexos tuvieron pesos corporales significativamente mayores que en las filiales. La comparación del peso corporal entre las generaciones F1 y F2 mostró sólo diferencias significativas a los 7 días de edad postnatal, siendo F2 mayor que F1. Sin embargo, el peso materno fue significativamente mayor en P que en F1 y F2 al comienzo de la lactancia, mientras que F1 fue significativamente mayor que F2 a todas las edades (Tabla 4). Por último, el RFI fue significativamente mayor en la F2 respecto de la generación P al día 7 y de la generación F1 al día 14 (Fig. 1).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La subnutrición intergeneracional -o transgeneracional- afectó el peso corporal materno, mostrando un efecto acumulativo al comienzo de la lactancia. Resultados similares fueron obtenidos por Resnick y Morgane (1984) quienes al aplicar una subnutrición proteica en dos generaciones hallaron un deterioro mayor del peso corporal materno en la segunda generación.

Luz y Griggio (1991) plantearon que el aumento de la ingesta alimentaria relativa en ratas subnutridas y posteriormente rehabilitadas, sería un “intento” de recuperación frente al déficit nutricional impuesto, por cuanto dichos animales no alcanzaron el peso corporal control. Contrariamente, en el presente estudio, la mayor ingesta alimentaria relativa permitió la recuperación del peso corporal materno. Sin embargo, las madres de la segunda generación subnutrida tuvieron proporcionalmente menor peso corporal que las de la primera generación, a pesar de tener un consumo alimentario mayor (Fig. 1). Este comportamiento diferencial de las madres F1 y F2 podría explicarse en parte por la diferencia en la cronicidad del estrés nutricional.

Estudios en países en desarrollo (Lechtig et al., 1975) han mostrado que existe un mejoramiento en el peso al nacimiento cuando madres crónicamente desnutridas son suplementadas durante la última fase gestacional. Sin embargo, dichos estudios no dan cuenta del crecimiento posterior de los niños. Los niños pequeños para la edad gestacional tienden a permanecer pequeños, aún en países donde presumiblemente no hay limitación de recursos alimentarios (Cruise, 1973).

A nivel experimental, no se cuenta con literatura suficiente y las diferencias en la metodología empleada dificultan la contrastación de resultados. Stewart et al. (1980) hallaron una sobrecompensación del crecimiento en ratas rehabilitadas en útero. En cuanto a la rehabilitación durante la lactancia, Kenney y Barton (1975), observaron que las diferencias encontradas en el peso corporal de dos generaciones de ratas desnutridas al nacimiento, desaparecieron al destete de la primera generación rehabilitada. Zamenhof et al. (1971) hallaron una reducción significativa del peso corporal y cerebral en ratas F2, aún cuando las madres fueron alimentadas ad libitum durante la lactancia. Otro modelo fue desarrollado por Stewart et al. (1980) quienes estudiaron la rehabilitación de ratas subnutridas por 10 generaciones. Estos autores sugirieron que para obtener una recuperación física total es necesario rehabilitar más de una generación.

Nuestros resultados concuerdan con estudios previos (Zamenhof et al., 1971; Stewart et al., 1975; Galler, 1980; Hoet et al., 1997), por cuanto el peso corporal de las crías mostró al nacimiento el efecto intergeneracional (Fig. 2). También concuerdan con los de Zamenhof et al. (1971) y Stewart et al. (1980), puesto que las crías F1 y F2 no recuperaron el peso corporal en su totalidad, concluyendo así que una suplementación nutricional aplicada sólo durante la lactancia no es suficiente para compensar el retardo de crecimiento producido por la subnutrición intergeneracional.

Siguiendo a Beaton y Ghassemi (1982) se concluye que los estudios comparativos sobre recuperación nutricional del ser humano son complejos, porque no puede discriminarse entre factores de pobreza y de marginalidad. Esto se logra mediante la experimentación, cuyos resultados, aunque no directamente extrapolables al hombre, contribuyen al mejor conocimiento del efecto intergeneracional sobre las poblaciones humanas y de las formas más adecuadas para lograr una recuperación nutricional.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado con fondos provenientes del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) PIP 4714/96, de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica PMT-PICT 0245 y de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

Tabla 1

Composición de la muestra

Tratamiento	Generación	Machos	Hembras
control	Parental (P)	20	21
subnutrición moderada	F1	22	20
	F2	20	22
total		62	63

Tabla 2

Análisis multivariado de mediciones repetitivas

VARIABLES Y FACTORES	Lambda de Wilk's	F
Peso de las crías		
Edad lactacional	0.01	3929.17 **
Edad lactacional*Sexo	0.93	2.91 *
Edad lactacional*Generación	0.26	38.65 **
Edad lactacional*Sexo*Generación	0.92	1.70
Peso materno		
Edad lactacional	0.04	132.16 **
Edad lactacional*Generación	0.13	8.94 **
RFI		
Edad lactacional	0.05	139.02 **
Edad lactacional*Generación	0.55	2.78 *

*p<0.05

**p<0.01

Tabla 3

Análisis repetitivo de la varianza: efecto inter-sujeto e intra-sujeto

	Cuadrado medio	F	Peso de las crías Suma de cuadrados	VI	VA	Cuadrado medio	F	Peso materno Suma de cuadrados	VI	VA	Cuadrado medio	F	RFI Suma de cuadrados	VI	VA
INTER-SUJETO															
Sexo	25.17	4.02*													
Generación	881.05	140.87**				9527.15	10.57**				4568.42	12.35**			
Sexo*Generación	17.48	2.80													
INTRA-SUJETO															
Edad lactacional	12851.97	4694.76**	38555.92			8472.73	112.57**	25418.19			15700.50	66.46**			
Edad lactacional*Sexo	3.98	1.45	11.93												
Edad lactacional *Generación	53.70	19.62**	322.21			698.78	9.28**	4192.68			823.36	3.49*			
Edad lactacional*Sexo *Generación	10.30	36.76**	61.81												
Contraste polinomial															
lineal															
Edad lactacional	38126.85	6850.83**	38126.85	98.89	98.89	23554.72	248.29**	23554.72	92.67	92.67	30491.60	280.02**	30941.64	98.54	98.54
Edad lactacional*Sexo	1.35	0.24	1.35	11.31	11.31										
Edad lactacional *Generación	145.96	26.23**	291.92	90.61	90.61	1400.49	14.76**	2800.98	66.81	66.81	200.79	1.82	401.59	12.19	12.19
Edad lactacional*Sexo *Generación	27.35	4.91**	54.70	88.51	88.51										
cuadrática															
Edad lactacional	343.11	282.96**	343.11	0.89	99.78	1794.00	42.20**	1794.00	7.06	99.73	459.28	1.27	459.28	1.46	100
Edad lactacional*Sexo	4.54	3.74	4.54	38.00	49.31										
Edad lactacional *Generación	7.86	6.48**	15.72	4.88	95.48	458.93	10.79**	917.86	21.89	88.7	1445.93	3.99*	2891.86	87.81	100
Edad lactacional*Sexo *Generación	2.33	1.92	4.67	7.56	96.06										
cúbica															
Edad lactacional	85.95	59.91**	85.95	0.22	100	69.47	0.79	69.47	0.27	100					
Edad lactacional*Sexo	6.05	4.22*	6.05	50.69	100										
Edad lactacional *Generación	7.28	5.08**	14.56	4.52	100	236.92	2.68	473.84	11.3	100					
Edad lactacional*Sexo *Generación	1.22	0.85	2.44	3.95	100										

VI: varianza individual; VA: varianza acumulada

*p<0.05

**p<0.01

Tabla 4

Pruebas post-hoc de Bonferroni entre tratamientos

Edad lactacional	P-F1	P-F2	F1-F2
Peso de las crías (machos)			
1	1.63 **	1.41 **	-0.22
7	4.70 **	3.52 **	-1.18 **
14	3.96 **	4.37 **	0.41
21	4.40 **	5.40 **	1.00
Peso de las crías (hembras)			
1	1.23 **	1.08 **	-0.14
7	4.20 **	3.04 **	-1.17 **
14	5.61 **	4.15 **	-1.45
21	7.82 **	5.92 **	-1.91
Peso materno			
1	25.29 *	50.71 **	25.43 *
7	-10.95	20.57	31.52 *
14	-12.74	27.86 *	40.60 **
21	-17.43	22.29	39.71 **

*p<0.05

**p<0.01

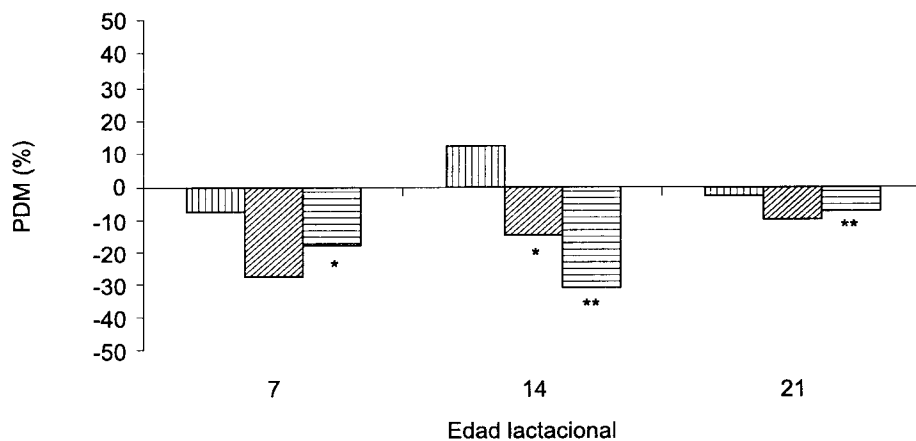


Figura 1
Diferencias Relativas entre Medias (PDM) para Ingesta Alimentaria Relativa (RFI). Rayado vertical: comparación entre P y F1; rayado oblicuo: comparación entre P y F2; rayado horizontal: comparación entre F1 y F2.

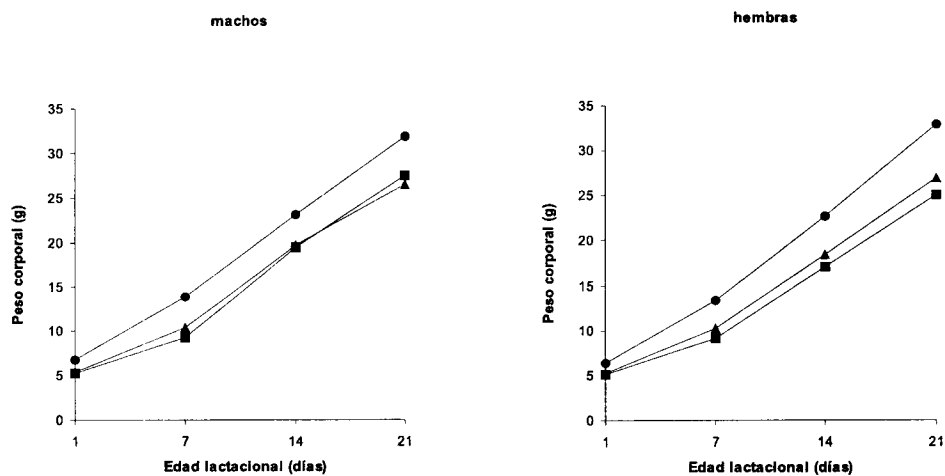


Figura 2
Curvas de crecimiento ponderal durante la lactancia. Círculos = crías de la Generación P; cuadrados = crías de la primera filial (F1); triángulos = crías de la segunda filial (F2)

BIBLIOGRAFIA CITADA

Beaton GH y Ghassemi H (1982) Supplementary feedings programs for young children in developing countries. *Am. J. Clin. Nutr.* 35:863-916.

Coutinho R, David RJ y Collins JW Jr (1997) Relation of parental birth weights to infant birth weight among African Americans and Whites in Illinois. A transgenerational study. *Am. J. Epidemiol.* 146:804-809.

Cowley JJ y Griesel RD (1966) The effect on growth and behavior of rehabilitation of first and second generation low protein rats. *Anim. Behav.* 14:506-517.

Cruise MO (1973) A longitudinal study of the growth of low birth weight infants. I. Velocity and distance growth, birth to 3 years. *Pediatrics* 51:620-628.

Darnton-Hill I y Coyne ET (1998) Feast and famine: socioeconomic disparities in global nutrition health. *Public Health Nutr.* 1:23-31.

Emanuel I (1986) Maternal health during childhood and later reproductive performance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 477:27-39.

Emanuel I (1997) Invited commentary: an assessment of maternal intergenerational factors in pregnancy outcome. *Am. J. Epidemiol.* 146:820-825.

Galler JR (1980) Home-orienting behavior in rat pups surviving postnatal or intergenerational malnutrition. *Dev. Psychobiol.* 13:563-572.

Guimarey LM, Carnese FR y Pucciarelli HM (1995) La influencia ambiental en el crecimiento humano. *Ciencia Hoy* 5:41-47.

Hoet JJ, Reusens B, Dahri S, El-Hajjaji H y Remacle C (1997) Protein malnutrition during pregnancy in the rat has an intergeneration effect on the endocrine pancreas. 16th International Congress of Nutrition, Montreal, Canada. *PW* 11.4:70.

Kenney MA y Barton EB (1975) Malnutrition and fetal development in two generations of rats. *Nutr. Rep. Int.* 11:243-250.

Lechtig A, Delgado H, Laskey R, Yarbrough C, Klein RE, Habicht J-P y Behar M (1975) Maternal nutrition and fetal growth in developing countries. *Am. J. Dis. Child.* 129:553-556.

Luz J y Griggio MA (1991) Food restriction and refeeding in growing rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 99A:477-480.

Orden AB (1997) Ontogenia del Dimorfismo Craneano Sexual y su Alteración por Factores Nutricionales. Un Estudio de Antropología Biológica Experimental. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.

Orden AB, Muñe MC y Pucciarelli HM (1999) Body growth and food intake in moderately and severely malnourished rats. *Growth, Dev. & Aging* 63:133-142.

Resnick O y Morgane PJ (1984) Generational effects of protein malnutrition in the rat. *Brain Res.* 317:219-227.

Stewart RJ, Preece RF y Sheppard HG (1973) The long-term effects of marginal protein-energy deficiency. Proc. Nutr. Soc. 32:102A-103A.

Stewart RJ, Preece RF y Sheppard HG (1975) Twelve generations of marginal protein deficiency. Br. J. Nutr. 33:233-253.

Stewart RJ, Sheppard H, Preece R y Waterlow JC (1980) The effect of rehabilitation at different stages of development of rats marginally malnourished for ten to twelve generations. Br. J. Nutr. 43:403-412.

Zamenhof S, van Marthens E y Grauel L (1971) DNA (cell number) in neonatal brain: second generation (F_2) alteration by maternal (F_0) dietary protein restriction. Science 172:850-851.