

Alteraciones Conductuales por Deprivación Visuo-Kinestésica en Ratas

SERGIO ESPINOZA CIFUENTES

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo consistió en replicar en ratas los experimentos de deprivación de la coordinación visuo-kinestésica realizados previamente por Held & Hein en gatos. Se pretendió ver si era posible producir el mismo tipo de alteraciones del comportamiento visualmente guiado, en particular las fallas en la percepción de profundidad. Se usaron parejas de ratas. En cada pareja había un animal activo y uno pasivo. El activo recibía estimulación visual concurrente con los movimientos de locomoción. El movimiento era transmitido mecánicamente al pasivo. Este recibía la misma estimulación visual, pero no concurrente con sus propios movimientos. Nuestros resultados mostraron, en las ratas pasivas, un detrimento comparable al de los gatos pasivos. Este se evidenció por un menor rendimiento, estadísticamente significativo, en las pruebas de discriminación de profundidad. Se comprobó así la validez de nuestra hipótesis de que el desarrollo del comportamiento visualmente guiado en la rata está influido por el mismo tipo de variables que en el gato.

INTRODUCCION

Los efectos de la modificación ambiental sobre el desarrollo sensomotriz son de interés por sus muy directas implicaciones prácticas. Sin embargo, han resultado también de interés para el neurobiólogo, ya que dichas manipulaciones pueden traducirse en cambios plásticos del sistema nervioso detectables con métodos apropiados. Estos pueden ilustrar sobre los mecanismos de localización y control neural de funciones específicas. La principal técnica experimental de aproximación al problema ha sido la de criar animales en ambientes restringidos (deprivación) desde el momento del nacimiento o inmediatamente después. Evidencias experimentales han revelado modificaciones del comportamiento, a veces irreversibles, al restringir ciertos estímulos ambientales. Estos cambios conductuales tienen una contraparte de cambios a nivel neuroanatómico y fisiológico. Una experiencia muy conocida, realizada por David Hubel y Torsten Wiesel, es la sutura unilateral de los párpados en gatitos recién nacidos durante su desarrollo, lo que se traduce en dificultades visuales monoculares en el adulto. Estas se acompañan de una serie de cambios en la arquitectura funcional y la fisiología demostrables a varios niveles de la vía visual (para revisión de estos estudios ver Kandel y Jessell, 1991).

Los estudios relativos al sistema visual han suscitado mayor interés, principalmente por la relativa simplicidad de muchos de los experimentos y por su adecuación directa a la percepción. Este proporciona uno de los medios más favorables para el estudio relativo al desarrollo y maduración del sistema nervioso. Los avances que hacen posible discutir estos problemas en términos neurofisiológicos han resultado del descubrimiento que en el sistema visual y otros sistemas sensoriales existe un juego altamente específico de conexiones neurales (para ampliación de este concepto ver Kuffler y Nichols, 1976 y Kandel, Jessell y Schwartz, 1991).

El presente experimento tiene como objeto buscar un modelo comportamental que aporte al estudio de cambios plásticos en el sistema nervioso. En vista de su disponibilidad y otras ventajas, tratamos replicar en la rata de laboratorio el experimento de deprivación de la coordinación visuo-motriz ideado por Held & Hein (1963) y Held (1965) en gatos. Ellos usaron un par de gatos recién nacidos; uno de ellos podía moverse libremente a la vez que

obtenía estímulos visuales (sujeto activo), al tiempo que transmitía mecánicamente sus movimientos a otro gato que estaba impedido de hacerlo por sí mismo (sujeto pasivo). A ambos gatos se les ofrecía un medio visual idéntico. Esto resulta en virtual ceguera del gato pasivo. El efecto es reversible. En el presente experimento partimos de la hipótesis de que en la rata pueden operar mecanismos similares a aquellos de los gatos en el desarrollo visuo-motriz.

Nuestros resultados demuestran que en la rata es posible producir un detrimento comparable al de los gatos en el comportamiento visualmente guiado al producir la privación selectiva de coordinaciones visuo-kinestésicas durante el desarrollo. Esto nos abre posibilidades para buscar correlatos neurales tomando ventaja de la experiencia que tenemos acerca de la organización funcional del sistema visual de la rata, en particular a nivel de la corteza cerebral (Espinoza, 1983, Espinoza y Thomas, 1983, Thomas y Espinoza, 1987).

MATERIAL Y METODO

Sujetos

Se usaron cuatro pares de ratas de la cepa AXC (animales pigmentados) perteneciendo los animales de cada par a una misma camada.

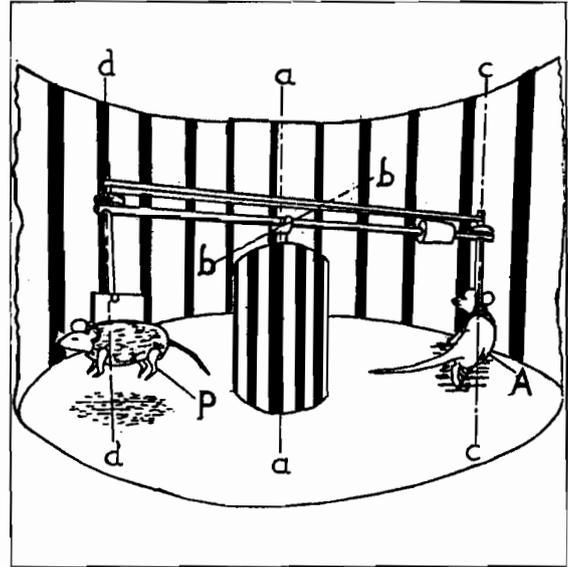
Aparato de entrenamiento

Se empleó un carrousel que tenía por objeto igualar la estimulación visual de ambos miembros de cada par, constituidos por un sujeto activo (A) y uno pasivo (P). La variación de la estimulación visual era el resultado de los movimientos locomotores del sujeto A, los cuales se transmitían mecánicamente al sujeto P. Ambas ratas estaban unidas a través de palancas de madera, que a su vez poseían un sistema de poleas para la transmisión de los movimientos de A a P. (fig. 1). La rata A estaba sujeta a uno de los extremos por medio de un collar de tevinil, permitiéndole movimientos en 3 ejes: 1) Alrededor del carrousel (a-a); 2) en sentido vertical (b-b) y 3) sobre su eje (c-c). La rata P estaba en el extremo opuesto suspendida en una hamaca y a algunos cms. del piso, de modo que movía las extremidades pero no caminaba. A ambas ratas se les permitía mover la cabeza.

El carrousel estaba instalado sobre una base de madera cubierta por tevinil negro. La simetría radial fue dada por un cilindro de cartón forrado blanco, con rayas verticales negras de frecuencia constante.

Para evitar que las ratas se vieran una a otra, en el centro se colocó un cilindro semejante al anterior, pero de diámetro y altura menor. El equilibrio era mantenido por pesas adecuadas.

FIGURA 1



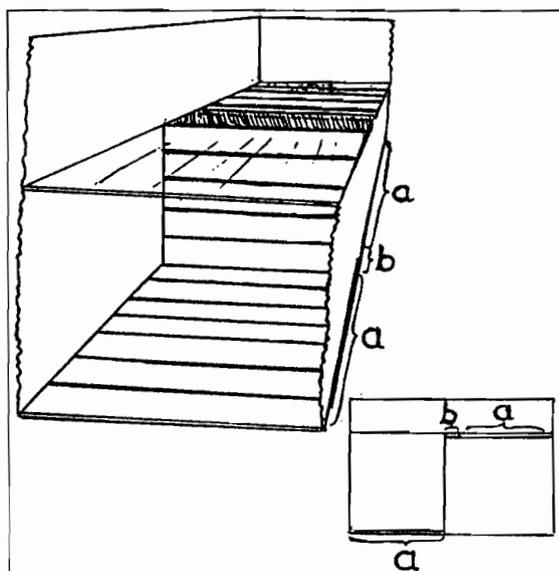
Pruebas visuales

Luego del tiempo de adiestramiento, para todos los animales (tanto A como P) se escogió una prueba del comportamiento visualmente guiado que minimizara los grandes movimientos, que no requiriera de condicionamiento por repetición de movimientos, pero que aún fuera dependiente de la capacidad de realizar discriminaciones visuo-espaciales. Se escogió la discriminación de profundidad.

Discriminación de profundidad

Se adaptó el abismo visual de Gibson y Walk (1960) para su uso en ratas (fig. 2). Este era básicamente una plataforma de vidrio cuya mitad estaba apoyada sobre una superficie sólida y la otra libre. El estímulo estaba dado por una cartulina con rayas negras y blancas, el que estaba colocado entre el vidrio y la superficie sólida; cuando terminaba ésta, el papel doblaba en ángulo recto hacia abajo, para llegar a otra superficie que estaba ubicada a 80 cm. de la anterior, doblando nuevamente en ángulo recto y cubriendo esta nueva superficie que se correspondía con la mitad libre del vidrio. El vidrio era iluminado para que la rata no lo viera, de forma que se obtenía una superficie segura que terminaba en un abismo. Para evitar cualquier tipo de estímulos adicionales el sistema estaba aislado por paredes de cartón.

FIGURA 2



Reflejo pupilar

Para evaluar la integridad del receptor periférico, se realizó una prueba adicional que fue el reflejo pupilar.

Procedimiento general

Las ratas recién nacidas fueron colocadas junto a sus respectivas madres en una caja completamente oscura, abriéndola sólo una vez al día, con un mínimo de luz para proporcionales alimentación. El entrenamiento comenzó a la quinta semana de edad, cuando la rata activa estuvo físicamente capacitada para moverse por sí misma y transportar a su compañera. En un principio eran colocadas 3 minutos, el tiempo se fue aumentando paulatinamente durante 16 días, hasta llegar a tres horas diarias. Con este último horario se entrenaron 19 días, completando un total de 60 horas. Los días domingos se dejaban descansar. Se construyeron tres carrouseles lo que permitía tener dos jornadas de trabajo. Para diferenciar ratas activas de pasivas, el pelaje de las primeras fue teñido con ácido pícrico en el abdomen. Las parejas eran constantes y para distinguirlas fueron identificadas con cortes y orificios en las orejas.

Luego de completado el período de entrenamiento se realizó el test de discriminación de profundidad y el reflejo pupilar en todas las ratas. El primero se realizó durante 30 minutos: la rata era colocada en un sector neutral, el que estaba situado 10 cm. hacia la superficie sólida a partir del borde del abismo. Se

registraba las veces que iban al abismo (catalogada como error) y las que iban a la superficie sólida (catalogada como correcta). Cuando la rata sacaba sus cuatro extremidades de la zona neutral se computaba la respuesta como correcta o error y se tomaba para volver a colocarla en la zona central hasta cumplir los 30 minutos. En sucesivos ensayos la rata era colocada para que el abismo quedara situado a su derecha o izquierda siguiendo una serie al azar. Como control para las ratas activas se sometió a la prueba de discriminación de profundidades a un grupo de ratas adultas sin entrenamiento en el carrousel.

RESULTADOS

Nuestros principales resultados están referidos a las Tablas I y II.

TABLA I

% ACIERTOS

A	81	83	88	96	
B	76	84	79	75	
C	59	65	64	60	*

TABLA II

Nº DE ENSAYOS EN 30 MINUTOS

A	26	24	33	23	*
B	63	56	58	48	
C	41	37	39	20	*

A = No tratadas B = Activas C = Pasivas

* Diferencia significativa al 0.05 entre los grupos A y C con respecto al grupo B.

Para saber si existían diferencias significativas y dadas las características de nuestra muestra se realizó el U-test de Mann-Whitney. Se comparó el grupo de ratas activas (B) con las pasivas (C) y no tratadas (A) respecto al rendimiento en el abismo (% de aciertos, Tabla I) y al Nº de ensayos en 30 minutos (Tabla II).

Como puede observarse, respecto al % de aciertos, solo las pasivas muestran diferencia significativa ($z = -2.31 > 1.96$) con respecto a las activas. En las tablas I y II los datos correspondientes a las parejas de ratas activa y pasiva están consignados en registro. Cabe hacer notar que en cada pareja las activas rinden

siempre más que las pasivas. Esta diferencia se refleja por tanto en el promedio.

Respecto al N° de ensayos realizados durante los 30 minutos de prueba, tanto las pasivas como las no tratadas muestran diferencias significativas con respecto a las activas ($z = -2.31 > 1.96$ en ambos casos), realizando ambos grupos un número menor de ensayos que las activas.

Reflejo pupilar

El reflejo pupilar fue positivo para todas las ratas.

Otras observaciones

Luego de las pruebas se realizaron algunas observaciones cualitativas que fueron de interés. Al forzar a la rata activa hacia el abismo ofrecía una resistencia muy marcada y notoriamente superior a la pasiva, incluso chillaban, defecaban y orinaban (signos claros de temor en la rata). Si la rata activa era ubicada directamente en el abismo exploraba un momento y pasaba de inmediato al otro lado (superficie sólida) quedándose allí; en tanto que si era colocada en la superficie sólida la recorría pero no salía de ella; la rata pasiva se quedaba la mayor parte del tiempo en cualquiera de los dos lados y no ofrecía resistencia al ser forzada desde el lado sólido hacia el abismo. En la manipulación, durante el último tiempo se vio una mayor pasividad en el sujeto P.

DISCUSION

El principal resultado del presente trabajo consiste en un deterioro del comportamiento visualmente guiado en los animales pasivos. Este detrimento se evidencia en un menor rendimiento, con respecto al animal activo, en la prueba de percepción de profundidad. Estas diferencias son estadísticamente significativas.

Los resultados obtenidos nos indican que además de los cambios del medio ambiente son necesarios los estímulos producidos por movimientos intrínsecos del individuo para el desarrollo del comportamiento visualmente guiado en la rata.

Una estimulación visual producida por otros medios no es suficiente, como se observó en el sujeto pasivo, ya que este no careció de estimulación, sino que simplemente no la buscó por sí mismo.

El deterioro del comportamiento visualmente guiado observado en las ratas pasivas pudiera ser atribuible a factores inespecíficos tales como:

a) Deterioro anatómico o fisiológico en la vía visual primaria o en el aparato locomotor.

b) Inhibición del comportamiento

Nuestras observaciones permiten descartar el deterioro anatómico o fisiológico, ya que el reflejo pupilar fue positivo para todos los animales. Además, ningún animal mostró signos de debilidad motriz. Por el contrario, la movilidad fue normal en todas las ratas.

Se descartó una posible inhibición de la actividad atribuible a condiciones de estrés, ya que una vez adaptadas a las condiciones del adiestramiento las ratas no presentaron signos de tensión y/o resistencia. Tampoco se observó manifestaciones a nivel neurovegetativo. Si bien es cierto que las ratas pasivas emiten un número significativamente menor de respuestas que las activas, cometen además un número mayor de errores. En las condiciones de este experimento el error también corresponde a una respuesta activamente emitida.

Por lo tanto parece plausible la hipótesis de que el menor rendimiento en las pruebas de visión de profundidad observado en las ratas pasivas se debe a la disrupción de algún conjunto de asociaciones codificadas a nivel del sistema nervioso central al impedirse la exploración activa.

Nuestros resultados son semejantes a los obtenidos por Held & Hein (1963) y Hein (1965) en gatos, lo cual confirma nuestra hipótesis de que los patrones de comportamiento visual en ratas pueden ser afectados por las mismas variables.

Aun cuando las ratas pasivas sufrieron un deterioro considerable, estadísticamente significativo, no perdieron totalmente la capacidad de discriminación de profundidad, rindiendo en alrededor de un 60% de respuestas correctas.

En nuestro datos se observa un ligero mayor rendimiento en las ratas no tratadas con respecto a las activas, pero que no alcanza criterio estadístico.

El número menor de ensayos emitidos por las ratas pasivas es concordante con la observación cualitativa consignada en cuanto a que estas mostraron mayor pasividad a la manipulación en las postrimerías del período de prueba.

El menor número de ensayos emitidos por las no tratadas, que es estadísticamente significativo respecto a las activas, nos resulta difícil de explicar. Quizás pueda deberse a algún factor transitorio el día de las pruebas como por ejemplo el grado de saciedad o somnolencia, aunque cabe consignar sin embargo que se trató en lo posible de igualar estos factores para todos los grupos.

Cabe observar que el rendimiento de las ratas activas en la prueba diseñada se distribuye en alrededor de un 80% de respuestas correctas. En esto difieren de los gatos activos, que cometen menos errores, aproximándose casi al 100% de respuestas correctas.

Esto indica que las ratas son inferiores a los gatos en la visión de profundidad.

Lo anterior podría relacionarse con la estrategia utilizada por ambas especies para resolver el problema. En el caso del gato, por la mayor superposición de los campos visuales de ambos ojos, cabría un predominio de mecanismos relacionados con análisis central de disparidades de las imágenes retinianas, es decir, propiamente estereopsis. En el caso de la rata, por su menor visión estereoscópica, producto del escaso campo de visión binocular, pudiera predominar una estrategia de análisis de paralaje (o de otras claves no binoculares). El presente experimento, por su diseño, no entrega ningún indicio para decidir sobre estas posibilidades. Cabe mencionar, sin embargo, que en la corteza visual primaria de la rata el porcentaje de unidades binoculares es casi nulo (Espinoza, 1983), no así en el gato, que como lo demostraron Hubel y Wiesel, aproximadamente el 75% de las unidades muestran algún grado de binocularidad (ver revisión en Kuffler & Nichols, 1976 y Kandel & Jessell, 1991). Considerando estos datos, no deja de ser sorprendente el relativo buen rendimiento de las ratas activas en esta prueba.

En nuestros animales no se realizó un seguimiento luego de terminado el período de prueba. Por el contrario, los animales fueron sacrificados inmediatamente y los cerebros extraídos y fijados para un eventual estudio posterior. Por este motivo no podemos afirmar si es que el deterioro observado en el animal pasivo es reversible luego de un período apropiado de exposición a un régimen normal de exploración activa, como fue el caso de los gatos de Held & Hein (1963).

En numerosos estudios se ha demostrado que la privación sensorial ocasiona alteraciones anatómicas y fisiológicas en las vías específicas. Nuestra privación es de la coordinación visuo-motora, por lo que cabría esperar cambios neurales semejantes. Ahora bien, la localización de las alteraciones pudiera estar en una zona de interacción entre el sistema visual y el motor, probablemente a un nivel cortical asociativo. Por este motivo, sería interesante tomar ventaja de los nuevos métodos de trazado de vías para el estudio comparativo de los cerebros de animales activos con los pasivos. En nuestro laboratorio hemos probado la posibilidad de usar como trazador anterógrado la leucoaglutinina de *Phaseolus-vulgaris* (Espinoza, Subiabre & Thomas, 1993), en combinación con trazadores fluorescentes como la bisbenzimidá, en la corteza visual de la rata. Esto abre perspectivas para estudios cuantitativos en la arquitectura de las vías a nivel de microscopía óptica y electrónica.

Las observaciones presentes realizadas en ratas pueden ser proyectadas directamente a la especie humana. Ellas nuevamente demuestran dramática e incuestionablemente el valor de la libre exploración visuo-kinestésica del ambiente por parte del niño para el desarrollo y manifestación normal de su desempeño visuo-espacial adulto.

AGRADECIMIENTOS

Los experimentos se llevaron a cabo en el Instituto de Fisiología, Fac. de Medicina, U. Austral de Chile, Valdivia. Participaron los siguientes alumnos: Katy Heise M., Jessie Niklitschek H., Mario Ríos P. y Jacqueline Yañez.

REFERENCIAS

- Espinoza, S., (1983). Single unit studies in the visual cortex of rodents, *Arch. Biol. Med. Exp.*, 16, 305-315.
- Espinoza, S. and Thomas, H., (1983), Retinotopic organization of striate and extrastriate visual cortex in the hooded rat, *Brain Research*, 272, 137-144.
- Espinoza, S., Subiabre, J., and Thomas, H. C. (1993). Efferent connections of the primary visual cortex in the rat demonstrated with *Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin* (PHA-L), In preparation.
- Gibson, E. J. and Walk, R.D., (1960). The "visual cliff". *Sci. Amer.* 202 (IV): 64-71.
- Held, R. (1965). Plasticity in sensory-motor systems, *Sci. Amer.* 213;84-94.
- Held, R. & Hein, A., (1963) Movement-produced stimulation in the development of visually guided behavior, *J. Comp. and Physiol. Psychol.*, 53, 872-876.
- Kandel, E. R. and Jessell, T. M., 1991, Early experience and the fine tuning of synaptic connections, In: *PRINCIPLES OF NEURAL SCIENCE*, Kandel, Schwartz and Jessell, Eds., 3rd Edition, Prentice Hall International Inc., pp 945-958.
- Kuffler, W. S. and Nichols, J. G. (1976). Genetic and Environmental influences in the Mammalian Visual System. In: *FROM NEURON TO BRAIN*. Sinauer Assoc., Inc., Publishers, Sunderland Massachusetts.
- Thomas, H. C. and Espinoza, S. G., (1987) Relationships between interhemispheric cortical connections and visual areas in hooded rats, *Brain Research*, 417, 214-224.