

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA  
FACULTAD DE PSICOLOGÍA



## Apego y Anorexia Nerviosa:

Manipulación de las experiencias  
tempranas en ratas y desempeño en el  
procedimiento experimental de  
Anorexia Basada en la Actividad

Olaia Carrera Guermeur

Febrero, 2007



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**Apego y Anorexia Nerviosa:**

**Manipulación de las experiencias tempranas en  
ratas y desempeño en el procedimiento  
experimental de Anorexia Basada en la Actividad**

**Olaia Carrera Guermeur**

**Tesis Doctoral dirigida por:**

**Dr. Emilio Gutiérrez**

**Dra. Clotilde Sineiro**

**Santiago de Compostela, 2007**



EMILIO GUTIÉRREZ GARCÍA, Profesor Titular del Departamento de Psicología Clínica y Psicobiología, de la Facultad de Psicología de la Universidad de Santiago de Compostela y CLOTILDE SINEIRO GARCÍA, Profesora Titular del Departamento de Psicología Clínica y Psicobiología, de la Facultad de Psicología de la Universidad de Santiago de Compostela

INFORMAN

Que la Tesis Doctoral realizada bajo nuestra dirección en la Universidad de Santiago de Compostela por OLAIA CARRERA GUERMEUR con el título: "Apego y Anorexia Nerviosa: Manipulación de las experiencias tempranas en ratas y desempeño en el procedimiento experimental de Anorexia Basada en la Actividad" no sólo reúne los requisitos de calidad, originalidad y presentación exigibles a una investigación científica para ser defendida públicamente, sino que merece la máxima valoración en cuanto a seriedad de planteamientos, actualidad de enfoque y rigor metodológico.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmamos la presente.

En Santiago de Compostela, 1 de Febrero de 2007.

Fdo.: Emilio Gutiérrez García

Fdo.: Olaia Carrera Guermeur

Fdo.: Clotilde Sineiro García



Y tal como dijo en una ocasión Herbert Weiner a Myron Hofer:

“Don’t worry, the marvelous thing about science is that we’re always wrong. We may find out that we’re wrong tomorrow, or it could take 10 years or even a generation, but in the end, you know, we are *always* wrong.”

- Hofer, 1982, p. 27.





## **Agradecimientos**

Fueron muchas las personas que contribuyeron a que este proyecto se hiciese realidad y a las que debo mi más sincero agradecimiento. En primer lugar, a Emilio Gutiérrez, por su dedicación a este trabajo, y sobre todo, por haberme transmitido su pasión por la investigación y por haberme enseñado a salir de detrás de las palabras; abandonar la superficie de las cosas, sea para descender o para elevarse, siempre es una aventura!

Quisiera agradecer de forma especial a Bob Boakes por haberme brindado la oportunidad de trabajar en su laboratorio y de iniciarme en el mundo de la investigación animal que resultó decisiva para la realización de este trabajo. Tanto su hospitalidad, como la cálida acogida del resto de los compañeros del laboratorio, Melissa, Kelly, Thida, Murray, Jen, Noni, Garth y Darek, han hecho que recuerde mi estancia en la Universidad de Sydney como uno de los momentos más agradables en la realización de esta tesis.

Quisiera agradecer también a todas aquellas personas que de alguna u otra forma han puesto su granito de arena contribuyendo a la realización de este proyecto. A Clotilde, por sus sugerencias. A Chema, responsable del animalario central de la USC, por su amabilidad y continua disponibilidad; a Javier Abalo y Antonio Rial por la ayuda prestada en el análisis de los datos; de manera especial a María, siempre con una sonrisa y dispuesta a ocuparse de las ratitas, gracias por hacer que las cosas sean tan fáciles! A Alicia, por ver siempre la garrafa "meio chea", y porque es un verdadero placer compartir este camino contigo. Y por supuesto, a todos los compañeros y amigos de los miércoles, jueves y viernes clínicos por su aportación más "humana" a este trabajo, con su cariño y sus inagotables dosis de optimismo irracional!

Todo esto no habría sido posible sin el apoyo incondicional de mi familia. A mis padres, por haber estado una vez más a mi lado, apoyándome sin la más mínima vacilación en cada una de mis decisiones, gracias de todo corazón! A Noela, por esas largas charlas telefónicas y por estar siempre tan cerca a pesar de la distancia. A la "petite" Juliette, porque la vida es un poquito mejor desde que tú naciste :-)

Y a ti, que me has demostrado una y otra vez que no hay nada imposible, y que los sueños pertenecen a quienes los persiguen, gracias por estar a mi lado.



Apego y Anorexia nerviosa:  
Manipulación de las experiencias tempranas en ratas y  
desempeño en el procedimiento experimental de Anorexia  
Basada en la Actividad

**Indice**

A modo de presentación .....	xii
------------------------------	-----

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

1. Anorexia nerviosa .....	1
1.1. La anorexia nerviosa a través del tiempo .....	1
1.2. La esencia de la anorexia nerviosa .....	3
1.3. “A ‘pursuit of fitness’ rather than a ‘pursuit of thinness’ ” (Beumont, 1991, p. X).....	7
1.4. ¿Anorexia nerviosa o anorexia por actividad? .....	11
1.5. La hiperactividad: la cenicienta entre los síntomas de la anorexia nerviosa.....	17
1.6. Anorexia basada en la actividad (ABA) .....	25
1.6.1. Anorexia basada en la actividad y anorexia nerviosa: similitudes y diferencias.....	30
1.6.1.1. Interacción dieta-ejercicio: un círculo vicioso.....	30
1.6.1.2. Función reproductora, hipotermia e insomnio y úlceras estomacales .....	34
1.6.1.3. Limitaciones del modelo animal ABA.....	37
1.6.2. Factores relacionados con el desarrollo de anorexia por actividad...	41
1.6.2.1. Pre-exposición a la rueda y nivel basal de actividad.....	41
1.6.2.2. Temperatura ambiental.....	43
1.6.2.3. Programa de alimentación .....	44
1.6.2.4. Características individuales .....	45

2. Apego.....	49
2.1. “Bowlby? Give me Barrabas” .....	49
2.2. Apego y psicopatología .....	52
2.2.1. Ainsworth y los estilos de apego .....	55
2.2.2. La anorexia nerviosa y la teoría del apego .....	57
2.2.3. Apego y psicopatología: “el apego inseguro no es bueno para su salud” .....	60
2.3. Respuesta de separación materna .....	63
2.3.1. De la complejidad a la simplicidad: reguladores ocultos .....	66
2.4. Apego: psique o soma? Conducta materna y transmisión intergeneracional .....	71
2.4.1. Variaciones de la conducta materna y vulnerabilidad al estrés.....	71
2.4.2. Transmisión intergeneracional .....	77
2.5. Apego y psicopatología: modelos de separación materna en roedores .....	81
2.5.1. Del <i>handling</i> a la separación materna prolongada .....	87
2.5.2. De vuelta al nido: los cimientos del apego .....	92

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

Introducción general.....	97
---------------------------	----

ESTUDIO 1. El efecto del <i>handling</i> vs. <i>no-handling</i> en el procedimiento de anorexia basada en la actividad .....	99
1. Método.....	100
1.1. Tratamiento neonatal.....	100
1.2. Sujetos .....	101
1.3. Aparatos .....	102
1.4. Procedimiento.....	103
1.5. Diseño .....	104
1.6. Análisis estadístico .....	105
2. Resultados .....	105
2.1. Peso corporal .....	106

2.2. Actividad en la rueda .....	110
2.3. Ingesta de comida .....	111
3. Discusión .....	113

ESTUDIO 2. Efecto de la separación materna prolongada durante la infancia en comparación con el procedimiento de separación breve ( <i>handling</i> ) y la ausencia de separación en el procedimiento de anorexia basada en la actividad .....	117
--	-----

1. Método .....	119
1.1. Tratamiento neonatal .....	119
1.2. Sujetos .....	121
1.3. Aparatos .....	122
1.4. Procedimiento .....	122
1.5. Diseño .....	123
1.6. Análisis estadístico .....	124
2. Resultados .....	125
2.1. Peso corporal .....	125
2.1.1. Machos .....	127
2.1.2. Hembras .....	129
2.2. Días para cumplir los criterios de retirada y recuperación .....	131
2.2.1. Machos .....	131
2.2.2. Hembras .....	132
2.3. Actividad en la rueda .....	134
2.3.1. Machos .....	134
2.3.2. Hembras .....	135
2.4. Ingesta de comida .....	136
2.4.1. Machos .....	136
2.4.2. Hembras .....	137
3. Discusión .....	139

ESTUDIO 3. Efecto del <i>handling</i> , <i>no-handling</i> y separación materna prolongada durante la infancia bajo condiciones de acceso a la rueda de actividad con comida ad libitum .....	145
---	-----

1. Método .....	149
1.1. Tratamiento neonatal.....	149
1.2. Sujetos .....	149
1.3. Aparatos .....	150
1.4. Procedimiento.....	150
1.5. Diseño .....	151
1.6. Análisis estadístico .....	152
2. Resultados .....	152
2.1. Peso corporal .....	153
2.1.1. Machos .....	154
2.1.2. Hembras .....	157
2.2. Actividad en la rueda .....	160
2.2.1. Machos .....	160
2.2.2. Hembras .....	161
2.3. Ingesta de comida .....	162
2.3.1. Machos .....	162
2.3.2. Hembras .....	164
2.4. Panorámica general de los Estudios 2 y 3 .....	166
3. Discusión .....	172

#### DISCUSIÓN GENERAL Y LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

1. Discusión general .....	175
2. Líneas futuras de investigación.....	181
3. Referencias bibliográficas .....	185

## Indice de Tablas y Figuras

<i>Tabla 1.</i> Anorexia nerviosa.....	8
<i>Tabla 2.</i> Clasificación de los estilos de apego según Ainsworth (1978).....	56
<i>Tabla 3.</i> Cambios comportamentales y fisiológicos que se producen en mamíferos sociales durante las fases de protesta y desesperanza de la separación materna (revisado en Amini et al., 1996).....	66
<i>Tabla 4.</i> Reguladores ocultos dentro de las interacciones madre-cría en ratas (tomado de Hofer, 1987).....	69
<i>Tabla 5.</i> Diseño del Estudio 1.....	105
<i>Tabla 6.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) para los machos (Día 0).....	106
<i>Tabla 7.</i> Número de ratas y media de los días para alcanzar el criterio de retirada para los machos.....	107
<i>Tabla 8.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) para las hembras (Día 0).....	108
<i>Tabla 9.</i> Número de ratas (y número medio de días para cada grupo de hembras) para alcanzar los diferentes criterios de peso corporal.....	109
<i>Tabla 10.</i> Diseño del Estudio 2.....	124
<i>Tabla 11.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) de los machos el Día 0.....	127
<i>Tabla 12.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) de cada grupo experimental de hembras el Día 0.....	129
<i>Tabla 13.</i> Número de ratas macho y número medio de días para alcanzar los diferentes criterios de peso corporal para cada grupo experimental.....	131

<i>Tabla 14.</i> Número medio ( $\pm$ Error Típico) de días para las ratas hembra antes de alcanzar el criterio de retirada o hasta finalizar el estudio.....	133
<i>Tabla 15.</i> Número de ratas hembra y número medio de días para alcanzar los diferentes criterios de peso corporal para cada grupo experimental.....	133
<i>Tabla 16.</i> Ingesta media ( $\pm$ Error Típico) de comida para los machos durante las 24 horas previas a la fase experimental.....	136
<i>Tabla 17.</i> Ingesta media ( $\pm$ Error Típico) de comida para las hembras durante las 24 horas previas a la fase experimental.....	138
<i>Tabla 18.</i> Diseño del Estudio 3.....	152
<i>Tabla 19.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) de los machos el Día 0.....	154
<i>Tabla 20.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) de las hembras ad libitum el Día 0 de la fase experimental.....	157
<i>Tabla 21.</i> Peso medio en gramos ( $\pm$ Error Típico) de machos y hembras H, NH y S en el Día 0 para los Estudios 2 y 3.....	167
<i>Tabla 22.</i> Peso medio ( $\pm$ Error Típico) de machos y hembras en el Día 0 para los Estudios 2 y 3. * Peso superior al de los machos Inactivos del Estudio 3, $p < 0.01$ .....	167
<i>Figura 1.</i> Aspecto demacrado del actor Christian Bale en la película “El maquinista” (tomado de Fotogramas, Dic. 2004, p.147). .....	15
<i>Figura 2.</i> Anorexia nerviosa vs. anorexia por actividad .....	16
<i>Figura 3.</i> Ratas sometidas al procedimiento ABA bajo diferentes temperaturas ambientales .....	35
<i>Figura 4.</i> Eje hipotalámico-pituitario-adrenal .....	74



<i>Figura 5.</i> Transmisión intergeneracional de la ansiedad y la conducta materna.....	79
<i>Figura 6.</i> Efectos de la conducta materna en la respuesta conductual y neuroendocrina al estrés en la vida adulta.....	87
<i>Figura 7.</i> Modelización de la relación entre la magnitud de separación materna y la respuesta de ansiedad en la vida adulta de las crías. A. Representación inicial de las diferencias en la respuesta de estrés de los animales sometidos a <i>handling</i> , <i>no-handling</i> y separación materna prolongada. B1, Representación alternativa, en forma de herradura, del modelo anterior. Este modelo permite representar, en las variantes B2 y B3, cómo las ratas separadas mueven su posición relativa con respecto a los otros dos grupos a lo largo del continuo ansiógeno, permitiendo así la representación de algunos resultados que no encajan con la modelización original representada en el modelo A.....	90
<i>Figura 8.</i> Esquema del procedimiento y composición de la muestra del Estudio 1.....	102
<i>Figura 9.</i> Medias ( $\pm$ Error Típico) del peso corporal de los machos relativo al peso en Día 0 a lo largo de los días. Las medias se muestran hasta el día en que la primera rata fue retirada de un grupo (n = 8).....	107
<i>Figura 10.</i> Medias ( $\pm$ Error Típico) del peso corporal de las hembras relativo al peso en Día 0 a lo largo de los días. Las medias se muestran hasta el día en que la primera rata fue retirada de un grupo (n = 8). * La pérdida de peso corporal en las ratas Activas a lo largo de los días fue superior y más rápida que en las ratas Inactivas, tanto para los grupos H como NH, $p < .05$ .....	108
<i>Figura 11.</i> Media ( $\pm$ Error Típico) de vueltas en la rueda por día para cada uno de los grupos de hembras Activas .....	111
<i>Figura 12.</i> Media ( $\pm$ Error Típico) de la ingesta de comida durante el periodo de 1.5 horas para machos (A) y hembras (B). * La ingesta de las hembras Inactivas fue superior y más rápida que la de las hembras Activas, $p < .05$ . .....	113
<i>Figura 13.</i> Esquema del procedimiento y composición de la muestra del Estudio 2.....	121

<i>Figura 14.</i> En el panel izquierdo pueden verse las crías durante la separación materna. En el panel derecho se puede ver una camada sin manipular.....	121
<i>Figura 15.</i> Peso corporal de las camadas en el Día 21 de edad y antes de iniciar el procedimiento experimental (Días 41 y 54 de edad para los machos y las hembras respectivamente). * El peso corporal de las ratas NH fue inferior al peso corporal de las ratas S, $p < .05$ , y #, el peso de las ratas NH fue inferior al de las ratas H, $p < .05$ . ....	126
<i>Figura 16.</i> Medias ( $\pm$ Error Típico) del peso corporal relativo al peso en Día 0 para los machos hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo ( $n = 12$ ). * La disminución del peso corporal de las ratas Activas fue más rápida que la de las Inactivas. Estas diferencias globales entre ratas Activas e Inactivas se confirmaron en el grupo de machos S y H, $p < .01$ , pero no en el grupo NH, $p > .05$ .....	128
<i>Figura 17.</i> Medias ( $\pm$ Error Típico) del peso corporal relativo al peso en Día 0 para las hembras hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo ( $n = 12$ ). * La disminución del peso corporal de las ratas Activas fue superior y más rápida que la de las Inactivas. Estas diferencias globales entre ratas Activas e Inactivas se confirmaron para cada uno de los grupos neonatales S, H y NH, $p < .05$ .....	130
<i>Figura 18.</i> Actividad media diaria ( $\pm$ Error Típico) para cada uno de los grupos neonatales de machos Activos .....	134
<i>Figura 19.</i> Actividad media diaria ( $\pm$ Error Típico) para cada uno de los grupos de hembras Activas. * Existen diferencias significativas en el incremento de la actividad a lo largo de los días para los diferentes grupos neonatales, $p < .05$ .....	135
<i>Figura 20.</i> Ingesta media de comida diaria ( $\pm$ Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de machos hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo ( $n = 12$ ). * La ingesta de comida de las ratas Inactivas fue superior y el incremento más rápido a lo largo de los días en comparación con las Activas. Estas diferencias globales se confirmaron en cada uno de los grupos neonatales S, H y NH, $p < .05$ .....	137

<i>Figura 21.</i> Ingesta media de comida diaria ( $\pm$ Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de hembras hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo (n = 12). * La ingesta global de comida de las ratas Inactivas fue superior a la de las hembras Activas. Estas diferencias globales entre ratas Activas e Inactivas se confirmaron sólo en las ratas NH, $p < .05$ .....	139
<i>Figura 22.</i> Condiciones experimentales utilizadas en los Estudios 2 y 3. Los grupos 1 y 2 del Estudio 3 pueden considerarse grupos de control adicionales del Estudio 2.....	147
<i>Figura 23.</i> Esquema del procedimiento y composición de la muestra del Estudio 3.....	150
<i>Figura 24.</i> Peso corporal de todos los animales en el Día 21 de edad y antes de iniciar el procedimiento experimental (Días 41 y 59 de edad para los machos y las hembras respectivamente).....	153
<i>Figura 25.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) relativo al peso en Día 0 para los machos durante 14 días, ya que no se retiró ninguna rata antes de finalizar el experimento (n = 8 para los grupos Activos; n = 11 para los grupos Inactivos). * El peso corporal de las ratas H, S y NH Inactivas fue superior al de sus congéneres Activas, $p < .01$ . ** El grupo NH-I incrementó su peso más rápidamente que su homólogo Activo .....	155
<i>Figura 26.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) relativo al peso en Día 0 para los machos Activos (n = 23) vs. Inactivos (n = 33). * El incremento de peso corporal de las ratas Inactivas fue superior y más rápido que el de las Activas, $p < .01$ .....	156
<i>Figura 27.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) relativo al peso en Día 0 para las hembras durante 14 días (n = 8). * El incremento de peso corporal en las ratas Activas fue más rápido que para las Inactivas en los subgrupos H y S, $p < .05$ .....	158
<i>Figura 28.</i> Peso corporal medio ( $\pm$ Error Típico) relativo al peso en Día 0 para las hembras Activas (n = 24) vs. Inactivas (n = 24). * El incremento de peso corporal de las ratas Activas fue más rápido que el de las Inactivas, $p < .01$ .....	159

<i>Figura 29.</i> Actividad media diaria ( $\pm$ Error Típico) de cada uno de los grupos neonatales de machos con acceso a la rueda de actividad .....	160
<i>Figura 30.</i> Actividad media diaria ( $\pm$ Error Típico) para cada uno de los grupos neonatales de hembras con acceso a la rueda de actividad.....	161
<i>Figura 31.</i> Ingesta media de comida ( $\pm$ Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de machos ad libitum hasta el día 14 (n = 8 para los grupos Activos, excepto NH, donde n = 7; y n = 11 para los grupos Inactivos). Cada uno de los grupos neonatales S, H y NH con acceso a la rueda incrementó su ingesta de forma más rápida que sus homólogos Inactivos, $p < .01$ .....	162
<i>Figura 32.</i> Ingesta media diaria ( $\pm$ Error Típico) para los machos ad libitum Activos (n = 23) e Inactivos (n = 33) hasta el día 14. * La ingesta de comida de las ratas Activas se incrementó de forma más rápida, $p < .01$ .....	164
<i>Figura 33.</i> Ingesta media de comida diaria ( $\pm$ Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de las hembras durante 14 días (n = 8). * La ingesta de comida de las hembras H se incrementó más rápido que la de las hembras NH y S, $p < .05$ . ** La ingesta de cada uno de los grupos neonatales H, NH y S Activos fue superior y se incrementó más rápido que la de sus respectivos controles Inactivos, $p < .01$ .....	165
<i>Figura 34.</i> Ingesta media diaria ( $\pm$ Error Típico) para las hembras Activas (n = 24) vs. Inactivas (n = 24) durante 14 días. * La ingesta de comida de las ratas Activas fue superior y más rápida que la de sus homólogas Inactivas, $p < .01$ .....	166
<i>Figura 35.</i> Evolución del peso medio diario ( $\pm$ Error Típico) para machos y hembras H, NH y S en los Estudios 2 y 3. Ad lib = comida 24 horas (Estudio 3); ABA = comida 1.5 horas (Estudio 2) .....	168
<i>Figura 36.</i> Evolución de la actividad media diaria ( $\pm$ Error Típico) para machos y hembras H, NH y S en los Estudios 2 y 3. Ad lib = comida 24 horas (Estudio 3); ABA = comida 1.5 horas (Estudio 2).....	170

*Figura 37.* Ingesta de comida media diaria ( $\pm$  Error Típico) para machos y hembras H, NH y S en los Estudios 2 y 3. Ad lib = comida 24 horas (Estudio 3); ABA = comida 1.5 horas, (Estudio 2) ..... 171



## **A modo de presentación**

La anorexia nerviosa es un trastorno grave que afecta al 0.3% de las mujeres en el periodo de vida comprendido entre la adolescencia y la edad adulta. Aunque también es un trastorno que se manifiesta en los hombres, la proporción es de diez a uno a favor de las mujeres<sup>1</sup> (Hoek & van Hoeken, 2003). Las consecuencias de la anorexia nerviosa pueden ser fatales, siendo el trastorno psiquiátrico, junto con el abuso de sustancias, con mayor riesgo de muerte (Harris & Barraclough, 1998). Además del desastre personal y familiar que supone la enfermedad, los costes asociados al tratamiento son cuantiosos debido a la ausencia de tratamientos eficaces. Según una estimación reciente, el coste anual de un país europeo medio asociado con el tratamiento de estas pacientes, que requieren de ingresos hospitalarios frecuentes, se ha estimado en 108 millones de euros (Bergh & Södersten, 1998).

La anorexia nerviosa se inicia típicamente hacia la mitad o finales de la adolescencia (14-18 años), y el comienzo de la enfermedad se asocia muy a menudo a acontecimientos estresantes inespecíficos. El curso y desenlace del trastorno son variables. De este modo, estudios recientes de seguimiento de pacientes entre 10 y 20 años después del diagnóstico arrojan unas cifras de recuperación apreciable entre un 40-50%, recuperación parcial con síntomas recurrentes entre un 20-25%, y un resultado muy pobre o con un curso crónico entre un 10-30% (Fichter, Quadflieg & Hedlund, 2005; Löwe et al., 2001). La mortalidad a largo plazo de este trastorno en personas hospitalizadas es aproximadamente del 10%, siendo la mortalidad para las pacientes con anorexia nerviosa de tipo purgativo el doble que para las de tipo restrictivo (Zipfel, Specht & Herzog, 1998).

Actualmente, se desconoce la causa de este trastorno y no existe ningún

---

1. Debido a esta desproporción entre hombres y mujeres de pacientes con anorexia nerviosa, de aquí en adelante se utilizará el femenino en el texto.

tratamiento farmacológico ni psicológico que hayan demostrado ser eficaces para la anorexia nerviosa (Abbate-Daga, Gianotti, Mondelli, Quartesan & Fassino, 2004; McIntosh et al., 2005). La búsqueda de factores de riesgo es una línea de investigación prometedora en el estudio de la anorexia nerviosa, ya que permitiría explicar por qué sólo determinadas personas desarrollan este trastorno mientras que la mayoría son relativamente inmunes.

Aunque el interés inicial que motivó la realización de esta tesis fue la influencia del vínculo de apego establecido durante la infancia en el desarrollo de la anorexia nerviosa en humanos, la revisión bibliográfica realizada nos fue llevando invariablemente hacia la investigación animal. Por una parte, al comenzar este estudio ya teníamos experiencia con el modelo de Anorexia Basada en la Actividad, un modelo animal análogo a la anorexia nerviosa que está resultando extremadamente útil para desvelar el papel modulador de la temperatura ambiental en la auto-inanición de las ratas (Gutiérrez, Baysari, Carrera, Whitford & Boakes, 2006). Por otra parte, y a medida que avanzaba la revisión bibliográfica, se fue haciendo más patente la existencia de modelos animales sólidos para el estudio de la influencia de las experiencias tempranas de las ratas en la vida adulta. Todo esto sumado a los resultados confusos y limitados de los estudios que analizan la anorexia nerviosa desde la perspectiva del apego en humanos, nos motivó a abordar esta cuestión desde los modelos animales. Y aunque en varias ocasiones intercalemos datos provenientes de “humanos” en apartados dedicados a estudios con “animales”, y viceversa, no es porque consideremos que se trata de fenómenos idénticos, sino porque creemos que los conocimientos de un apartado y del otro no deben permanecer en compartimentos estancos, y que una visión más amplia de la investigación puede contribuir a la comprensión y tratamiento de una enfermedad como la anorexia nerviosa.

A primera vista, la propuesta de un modelo animal para estudiar la influencia del apego en los trastornos de la alimentación puede parecer poco menos que herética. El empleo de animales, concretamente ratas, supone



abordar el estudio de la influencia del apego en la anorexia nerviosa en ausencia de las capacidades cognitivas y de simbolización propias de los humanos. Sin embargo, no debemos olvidar que tanto la teoría del apego como la anorexia nerviosa son dos ejemplos fascinantes donde el avance científico está en deuda con la experimentación animal, y no precisamente con mamíferos superiores cercanos al ser humano, sino con otros animales aparentemente más lejanos, como las ratas de laboratorio.

Este trabajo se ha organizado en tres partes diferenciadas: una parte teórica, una parte experimental y una tercera parte a modo de conclusiones finales. La primera parte consta de dos capítulos: un primer capítulo donde se realiza un acercamiento a la anorexia nerviosa, haciendo especial hincapié en la justificación del modelo animal como modelo análogo válido de la anorexia nerviosa, y señalando el papel clave que juega la manifestación clínica de la hiperactividad; y un segundo capítulo dedicado a la teoría del apego, especialmente a la relación entre apego y psicopatología, y a la contribución de los modelos de separación materna en roedores. A su vez, la segunda parte dedicada al desarrollo experimental consta de tres capítulos. En cada uno de ellos se presenta un estudio realizado a partir de la combinación de diferentes modelos de separación materna durante la infancia y el modelo de anorexia basada en la actividad con el objetivo de estudiar el impacto de las experiencias tempranas en el desempeño de las ratas bajo condiciones de restricción de alimentación y acceso a la rueda de actividad.

Obviamente, con estos estudios no se pretende dar una respuesta al papel del apego en la vulnerabilidad a la anorexia nerviosa en humanos, pero sí un nuevo acercamiento al tema, donde el supuesto de la necesidad de un aparato psicológico vertebrador de la experiencia de apego, da paso a una concepción de la figura de apego como reguladora de los parámetros fisiológicos que acaban configurando las bases de la vulnerabilidad a la anorexia nerviosa. Así pues, esta tesis, por el empleo que hace de los modelos animales, es un reto y una invitación a abandonar la interpretación más habitual

de los síntomas de la anorexia nerviosa y del rol de la figura materna en términos exclusivos de psicología humana.

## INTRODUCCIÓN TEÓRICA



## 1. ANOREXIA NERVIOSA

### 1.1. La anorexia nerviosa a través del tiempo

Etimológicamente el término anorexia procede del griego “orexis” que significa apetito o deseo. El prefijo “an” significa “ausencia de”, por lo tanto el término anorexia hace referencia a la pérdida de apetito. Actualmente este término se mantiene por razones históricas, pero no se utiliza en su sentido etimológico original, ya que las pacientes no presentan pérdida real de apetito hasta estados muy avanzados de la enfermedad. De hecho, sería más correcto y descriptivo el término alemán “magersucht” -adicción a la delgadez- tal como le gustaba señalar al Profesor Beumont (Beumont, Garner & Touyz, 1994).

Aunque el término “anorexia nerviosa” aparece a finales del siglo XIX (Gull, 1874), a lo largo de la historia existen claras referencias de comportamientos muy similares a los que se engloban bajo el diagnóstico actual de la anorexia nerviosa. En el libro de Bell (1985), “Holy Anorexia”, se describe el comportamiento anoréxico de algunas santas italianas (entre los años 1200 y 1600) que a través del ayuno suprimían una serie de necesidades físicas (como el cansancio, el impulso sexual, el hambre y el dolor) alcanzando así metas espirituales superiores. Estas jóvenes eran consideradas mujeres prodigiosas y algunas de ellas fueron santificadas por la iglesia (otras, sin embargo, fueron acusadas de brujería y quemadas en la hoguera). Una de estas santas mejor documentada es Catalina de Siena (1347-1380), que comía sólo un puñado de plantas medicinales al día, y en ocasiones vomitaba aquella comida que la obligaban a comer (Brumberg, 1988). A pesar de sufrir largos periodos de ayuno, nunca estaba cansada y se sentía llena de energía (Bell, 1985; Raimbault & Eliacheff, 1989). En fechas casi contemporáneas a la acuñación del propio rótulo de anorexia nerviosa, Isabel de Baviera (1837-1898), emperatriz de Austria universalmente conocida como la emperatriz Sissí, se sometía a regímenes alimentarios draconianos y realizaba una

actividad física diaria desmesurada que aparentemente no le producía fatiga. Incluso llegó a instalar un gimnasio en sus dependencias, algo extravagante en aquella época, y pasaba horas ejercitándose, montando a caballo o dando paseos de más de 6 horas de duración (Raimbault & Eliacheff, 1989).

Estas mujeres, y otros muchos casos más descritos por diferentes autores (Bell, 1985; Brumberg, 1989; Bruch, 1973; Palazzoli, 1978; Raimbault & Eliacheff, 1989), muestran un repertorio de conductas muy similar al de las actuales pacientes con anorexia. La principal diferencia entre unas y otras parece residir en las motivaciones y racionalizaciones de tales comportamientos: las primeras persiguiendo la perfección moral y religiosa mientras que las “anoréxicas modernas” se supone persiguen un ideal de belleza (Gordon, 1998).

La primera descripción médica reconocible de anorexia nerviosa se atribuye al médico inglés Richard Morton (1689) quien describió con detalle dos casos de anorexia nerviosa, que fue denominada por aquel entonces “consunción nerviosa”:

Mr. Duke's Daughter in St. Mary Axe, in the Year 1684 and the Eighteenth Year of her Age, in the Month of July fell into a total suppression of her Monthly Courses...I do not remember that I did ever in all my Practice see one, that was conversant with the Living so much wasted with great degree of a Consumption, (like a Skeleton only clad with skin) yet there was no Fever, but on the contrary a coldness of the whole Body; no Cough, or difficulty of Breathing, nor an appearance of any other Distemper of the Lungs, ... Only her Appetite was diminished, and her Digestion uneasy. (pp. 8-9)

Morton describe a una chica de 18 años que le impresiona por su extrema delgadez, pero que curiosamente no presenta fiebre, tos ni dificultades respiratorias tan frecuentes en aquellos tiempos en los que la tuberculosis era una enfermedad mortal y cursaba con una gran pérdida de peso. Se reconocen, sin embargo, los mismos síntomas que casi 200 años más tarde William Gull observó en las primeras descripciones modernas de las pacientes con anorexia nerviosa, tales como la amenorrea -“a total suppression of her

Monthly Courses”-, la paradójica vitalidad a pesar de la emaciación –“I do not remember...with great degree of a Consumption”- y la hipotermia –“a coldness of the whole Body”- (Morton, 1689, pp. 8-9).

La historia moderna del diagnóstico de la anorexia nerviosa se remonta a dos descripciones excelentes, aparecidas casi simultáneamente, y aparentemente de forma independiente la una de la otra, en Europa a finales del siglo XIX. La primera descripción corresponde al psiquiatra francés Charles Lasègue que empleó la denominación “anorexie hystérique” en París en 1873. Un año más tarde en Londres, el médico inglés Sir William Gull describió tres casos similares acuñando el término de “anorexia nerviosa” (1874) que es el que ha permanecido en la historia. Mientras que Lasègue hace numerosas observaciones del estado psicológico de las pacientes y de sus interacciones familiares, Gull se centra principalmente en el perfil de síntomas médicos, haciendo especial hincapié en el deterioro físico de las pacientes.

Aunque Lasègue describió el cuadro un año antes, Gull reclamó para sí el mérito de la descripción del trastorno amparándose en una breve referencia a la apepsia histérica de su discurso en el encuentro anual de la *British Medical Association*, celebrado en 1868 (Gull, 1968). Sin embargo, existe la sospecha de que Gull alertado por el trabajo de Lasègue reaccionara publicando su trabajo de 1874 para pasar a la historia como el descubridor del trastorno (Vandereycken & Van Deth, 1989). De ahí que el título de su artículo de 1874, “Anorexia Nervosa (apepsia hysterica, anorexia hysterica)” tratara de aunar el término utilizado por Lasègue (1873) “anorexia hysterica” y el que utilizó en su conferencia de 1868 “apepsia hysterica”, adelantando además un nuevo término: “anorexia nerviosa” que es el que acabó denominando el trastorno.

## **1.2. La esencia de la anorexia nerviosa**

A pesar de que han transcurrido más de cien años desde la denominación del trastorno y de la asombrosa estabilidad de la anorexia nerviosa a lo largo

del tiempo, la esencia misma de la anorexia nerviosa sigue siendo un tema de debate abierto entre los expertos. Además, esta cuestión sin resolver está íntimamente ligada a la ausencia de un tratamiento eficaz para este trastorno.

Durante el primer tercio del siglo XX la descripción médica del trastorno fue la concepción predominante. El descubrimiento de la importancia de las hormonas y su potencial utilidad clínica dirigieron el tratamiento de la anorexia nerviosa. El gran interés que despertaron los trastornos endocrinos como el Mal de Simmond (que en 1914 describió la afectación hipofisaria en la autopsia de una paciente fallecida tras un proceso de desnutrición extrema) provocó que un gran número<sup>2</sup> de pacientes con anorexia nerviosa, erróneamente diagnosticadas como trastornos pituitarios, fuesen tratadas a base de extractos de hormonas (Brumberg, 1988; Gordon, 1998). Esta confusión no fue aclarada hasta finales de la década de 1930 con la aparición de los trabajos de Ryle (1936) y Richardson (1939), que diferenciaron la anorexia nerviosa de la caquexia de Simmond y defendieron la importancia de los factores psicológicos y su impacto en la función endocrina.

El testigo de la importancia de los factores psicológicos es recogido entonces por el psicoanálisis. Así, en 1939 el psiquiatra George Alexander afirma ya que la psicoterapia es más importante para el tratamiento de la anorexia nerviosa que los preparados endocrinos. Esta modelización psicoanalítica se edifica a partir de las explicaciones infantiles de los embarazos. Al menos en aquella época, estaba extendida la creencia infantil de que tragarse algo acababa provocando el crecimiento de un bebé en la barriga. De acuerdo con el psicoanálisis, estas explicaciones infantiles del embarazo siguen influyendo en el pensamiento y comportamiento de las adolescentes y contribuyen a la construcción de síntomas, aunque esas explicaciones arcaicas hayan sido sustituidas por otras más adecuadas. Sobre este pensamiento

---

2. La magnitud de este error de diagnóstico que afectó a pacientes con anorexia nerviosa, es confirmada por Escamilla y Lissner, que en 1942 señalaron que de los casi 600 casos de Mal de Simmond reportados en la literatura, sólo una sexta parte, en concreto 101, podían ser verificados como auténticos casos de Mal de Simmond.



primitivo infantil y la ambivalencia sexual forjada por la curiosidad y la represión de la época, los autores psicoanalíticos construyen la evidencia de la fantasía de impregnación oral que se ve reforzada por dos aspectos: la ausencia de interés por las relaciones heterosexuales y las quejas que empleaban las pacientes después de haber comido acerca de “sentirse llenas”, “hinchadas” o “como si estuvieran embarazadas”, aspectos que siguen caracterizando a las pacientes actuales. Esta defensa de las fantasías de impregnación oral dominará el pensamiento psiquiátrico sobre la anorexia nerviosa durante aproximadamente dos décadas. Y de acuerdo con lo anterior, el rechazo a la comida se interpretará únicamente en términos de su significado simbólico y no en términos de su función biológica original (Waller, Kaufman & Deutsch, 1940).

Un paso importante hacia la concepción más reciente de la anorexia nerviosa se debe a la obra de la psicoanalista americana, Hilde Bruch, en los años 60. A lo largo de su trabajo Bruch ahondó en la formación de la personalidad y los factores dentro del ámbito familiar que condicionaban a las pacientes a responder a los problemas personales por medio de la comida, en algunos casos comiendo en exceso y en otros dejando de comer. La forma de enfrentarse a la comida se concebía como la racionalización de necesidades emocionales más profundas. De este modo, para Bruch, la inanición en la anorexia nerviosa representa una lucha por la autonomía y la competencia.

Hilde Bruch hizo especial hincapié en la importancia de los trastornos de la imagen corporal (tendencia a sobreestimar el tamaño corporal) como elemento central de la implacable persecución de la delgadez típico de estas pacientes (Bruch, 1973, 1978). Este aspecto se convirtió durante más de tres décadas en un elemento esencial de la anorexia nerviosa, sin embargo, en los últimos años, y como veremos más en profundidad en el próximo apartado, la centralidad de los trastornos de la imagen corporal como aspecto permanente y esencial de la anorexia nerviosa está siendo fuente de controversia. Además de los trastornos de la imagen corporal, otros dos aspectos centrales del

trabajo de Bruch son, por una parte, los trastornos interoceptivos, reflejados por la falta de habilidad para identificar con precisión y responder a sensaciones internas tales como el hambre, la saciedad, los estados afectivos y los sentimientos sexuales y, por otra parte, la sensación paralizante de ineficacia y pérdida de control, que atribuye al fracaso de los padres en favorecer la autonomía de los hijos.

La década de los ochenta estuvo dominada por la alerta ante la “epidemia genérica” de los trastornos de la alimentación, espoleada por la aparición en escena de la bulimia nerviosa como una categoría diagnóstica con identidad propia (Russell, 1979). Por lo que respecta a la anorexia nerviosa, esta alerta generó no tanto una evidencia de la magnitud epidémica del trastorno (Williams & King, 1987), como un crecimiento vertiginoso de la investigación que desemboca en una concepción multidimensional de la anorexia nerviosa y destaca la relevancia de los factores socioculturales (Garfinkel & Garner, 1982; Garner, Garfinkel, Schwartz & Thompson, 1980).

De acuerdo con este planteamiento multifactorial, actualmente se acepta la implicación de factores somáticos, psicológicos y sociales, aunque no está claro si estos factores son realmente la causa, meramente precipitantes o el resultado de la propia enfermedad, o incluso un cliché políticamente correcto que es más útil para ocultar lo que no sabemos que para afirmar lo que sí sabemos: “The contention that their aetiology is multidimensional (Garfinkel & Garner, 1982) is more useful to hide what we do not know than state what we do” (Beumont, 1998, p.27). Esta afirmación del Profesor Peter Beumont (Department of Psychological Medicine, University of Sydney) pone el dedo sobre un aspecto crucial de la anorexia nerviosa al que el Profesor Gerald Russell ha dedicado cinco contribuciones en los últimos veinte años (Russell 1984, 1985, 1995, 2003; Russell & Treasure, 1989), y que tiene que ver con la esencia misma de la anorexia nerviosa.

### **1.3. "A 'pursuit of fitness' rather than a 'pursuit of thinness' "**

(Beumont, 1991, p. X).

Desde la primera "proto-descripción" en el siglo XVII de Morton y las descripciones de Gull y Lasègue a finales del XIX, el concepto de la anorexia nerviosa ha sufrido numerosos cambios descriptivos e ideológicos que culminan en la clasificación diagnóstica actual que se centra en la pérdida de peso, la imagen corporal distorsionada, y el miedo a la obesidad en ausencia de una enfermedad física, tal como se recoge en la Tabla 1.

Ambos sistemas de clasificación de las enfermedades mentales, el DSM-IV-TR (APA, 2002) y el CIE-10 (OMS, 1992), son utilizados internacionalmente y están avalados por organizaciones médicas de reconocimiento mundial: la Asociación Americana de Psiquiatría (APA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) respectivamente. Aunque con algunas diferencias, ambas ofrecen un esquema de clasificación y unos criterios diagnósticos similares.

En los mencionados cinco intentos por atrapar y delimitar la esencia de la anorexia nerviosa, Gerald Russell realiza un análisis de los síntomas que han permanecido inalterables desde la formulación original de Charles Lasègue y William Gull (Russell, 1984, 1985, 1995, 2003; Russell & Treasure, 1989). Ese análisis se centra en los tres criterios sobre los que se ha venido sosteniendo el diagnóstico de la anorexia nerviosa en los últimos veinte años, como recogen el DSM-IV-TR y el CIE-10, a saber:

- "1) una pérdida de peso autoimpuesta*
- 2) un trastorno endocrino que se pone de manifiesto en la mujer a través de la amenorrea y*
- 3) una psicopatología específica: el miedo a la obesidad (la fobia al peso)" (Russell, 2003, p.14).*

## Tabla 1 ANOREXIA NERVIOSA

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS SEGÚN EL CIE-10	CRITERIOS DIAGNÓSTICOS SEGÚN EL DSM-IV-TR
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Pérdida significativa de peso, <math>IMC^* &lt; 17.5</math>. Prepubéres: no experimentar ganancia de peso propia del crecimiento.</li> <li>● Distorsión de la imagen corporal (pavor ante la gordura o flaccidez corporales) el paciente se impone a sí mismo el permanecer por debajo de un límite mínimo de peso corporal.</li> <li>● Trastorno endocrino generalizado que afecta al eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (en la mujer como amenorrea y en el varón como una pérdida de la potencia y del interés sexual).</li> <li>● Si el inicio es anterior a la pubertad, se retrasa, o incluso ésta se detiene.</li> <li>● La pérdida de peso está originada por el propio enfermo               <ul style="list-style-type: none"> <li>a) evitación de consumo de "alimentos que engordan" y por uno o más de los siguientes síntomas:                   <ul style="list-style-type: none"> <li>b) vómitos autoprovocados,</li> <li>c) purgas intestinales autoprovocadas,</li> <li>d) ejercicio excesivo y</li> <li>e) consumo de fármacos anorexígenos o diuréticos.</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Rechazo a mantener el peso corporal igual o por encima del valor mínimo normal considerando la edad y talla o fracaso en conseguir el aumento de peso normal durante el período de crecimiento (85% de lo esperable).</li> <li>● Alteración de la percepción del peso o la silueta corporales.</li> <li>● En las mujeres pospuberales, presencia de amenorrea; por ejemplo, ausencia de al menos tres ciclos consecutivos.</li> <li>● Miedo intenso a ganar peso o a convertirse en obeso, incluso estando por debajo del peso normal.</li> </ul> <p>Dos Tipos:</p> <p>Tipo restrictivo: Durante el episodio de anorexia nerviosa, el individuo no recurre regularmente a atracones o a purgas (por ej., provocación del vómito o uso excesivo de laxantes, diuréticos o enemas).</p> <p>Tipo purgativo: Durante el episodio de anorexia nerviosa, el individuo recurre regularmente a atracones o a purgas.</p>

\* El índice de masa corporal (IMC; en sus siglas inglesas BMI) pretende determinar a partir de la estatura y el peso, el rango más saludable de peso para una persona. El IMC es igual al peso en kg dividido por el cuadrado de la estatura en metros.

Si en 1984 Gerald Russell no dudaba de la centralidad de los trastornos de la imagen corporal como un elemento esencial de la anorexia nerviosa, en el año 2003, no le duelen prendas en afirmar que: “Gull y Lasègue describieron acertadamente la esencia de la anorexia nerviosa, pero en sus descripciones no incluyeron la preocupación del paciente por el tamaño de su cuerpo. Este hecho pone en duda que la moderna fenomenología del miedo a la obesidad (fobia al peso) sea una característica permanente y esencial de la anorexia nerviosa” (Russell, 2003, p.25). Este cambio de opinión recoge la evidencia de los primeros estudios con muestras no anglosajonas, principalmente en Hong Kong (Hsu & Lee, 1993; Hsu & Sobkiewick, 1991; Lee, Ho & Hsu, 1993), donde el miedo a la obesidad está ausente en la fenomenología de las pacientes, aspecto que ha sido recientemente revisado por Beumont (Rieger, Touyz, Swain & Beumont, 2001).

El segundo criterio señalado por Russell, la amenorrea, también está siendo sometido a revisión con respecto a su necesidad como criterio diagnóstico en la anorexia nerviosa, ya que un tercio de las mujeres que cumplen el primer criterio (IMC < 17.5) no presentan amenorrea (Gendall et al., 2006). Por otra parte, las pacientes que cumplen los criterios de anorexia nerviosa, con la excepción de la amenorrea, apenas muestran diferencias en la psicopatología, personalidad, comorbilidad psiquiátrica, historia familiar, o experiencias infantiles en comparación con aquellas pacientes que sí presentan amenorrea (Bulik, Sullivan & Kendler, 2000; Cachelin & Maher, 1998; Garfinkel et al., 1996; Walters & Kendler, 1995).

Esta reconsideración, o más bien desconsideración, de la relevancia de la amenorrea como criterio diagnóstico, es recogida explícitamente por Mitchell, Cook-Myers y Wonderlich en un artículo titulado: “Diagnostic criteria for anorexia nervosa: looking ahead to DSM-V”, aparecido en un número especial que la revista *International Journal of Eating Disorders* dedicó de forma monográfica a la anorexia nerviosa. En este artículo, los autores señalan que la presencia de la amenorrea no incrementa la especificidad del diagnóstico, dado

que algunas pacientes conservan la menstruación incluso cuando el peso corporal es muy bajo, por lo que la desaparición de la amenorrea como criterio diagnóstico en el próximo DSM-V es más que previsible. En sus propias palabras: "The criterion most likely to change in the 4th ed. of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders... is the amenorrhea criterion because this does not appear to add to the diagnostic specificity" (Mitchell et al., 2005, S95).

Por lo tanto, de los tres criterios diagnósticos que en los últimos veinte años han sido planteados como tales por su capacidad para "atrapar" el núcleo esencial de la anorexia nerviosa sólo quedaría un elemento definitorio, tan pobre y poco informativo como evidente: la manifiesta pérdida de peso en ausencia de un trastorno médico. Ante esta pérdida de elementos diagnósticos, en el último párrafo de la serie de artículos dedicados a la esencia de la anorexia nerviosa, Russell (2003) sugiere que "en el futuro, la característica psicopatológica objetiva y principal sea la respuesta negativa de los pacientes a reconocerse como víctimas de una enfermedad, así como la resistencia que oponen a un tratamiento" (p. 25). A simple vista, tales características esenciales de la anorexia nerviosa parecen muy pobres, pero a la vez conectan con otras propuestas realizadas, por ejemplo, por Regina Casper (1998) en su artículo "Behavioral activation and lack of concern, core symptoms of anorexia nervosa?", donde avanza en su reconocimiento de la "douce indifférence" de las pacientes ante su propio estado de emaciación (Casper & Heller, 1991).

Además de esta ausencia de preocupación, el artículo de Casper propone otra característica como parte esencial de la anorexia nerviosa: la activación conductual, a la que dedica una contribución más reciente (Casper, 2006) en cuyo título utiliza la expresión "drive for activity", subrayando así la centralidad de la actividad física incrementada típica de estas pacientes, en sustitución de la clásica "drive for thinness" que ha dominado la concepción de la anorexia

nerviosa en los últimos cuarenta años<sup>3</sup>. Este nuevo papel de la hiperactividad en la anorexia nerviosa también había quedado enfatizado años antes por Beumont en la afirmación que titula esta sección (“A ‘pursuit of fitness’ rather than a ‘pursuit of thinness’ ”), localizada en el prólogo del libro “Solving the anorexia puzzle” (Epling & Pierce, 1991).

Sin embargo, a diferencia de la ausencia de conciencia de enfermedad, o la resistencia al tratamiento, esta característica de la activación conductual abre una nueva perspectiva que afecta de forma rotunda a la concepción misma de la anorexia nerviosa.

#### **1.4. ¿Anorexia nerviosa o Anorexia por Actividad?**

Aunque cada vez más investigadores y clínicos, como veremos en el siguiente apartado, otorgan a la actividad física incrementada un mayor reconocimiento como característica central en la anorexia nerviosa, una parte importante del mérito de esta reconsideración corresponde, sin lugar a dudas, a dos investigadores cuya actividad se desarrollaba dentro del campo científico del aprendizaje animal: los profesores Frank Epling y David Pierce de la Universidad de Alberta (Canadá). De acuerdo con ese ámbito de estudio, este nuevo papel de la actividad física en el inicio y mantenimiento de la anorexia surge a partir de una línea de investigación desarrollada en el laboratorio animal con ratas sometidas a programas de alimentación restringida y acceso a una rueda de actividad<sup>4</sup>.

En 1983 apareció publicado en el *International Journal of Eating Disorders*, la revista más importante en el tema de los trastornos de la alimentación, un artículo titulado “A Theory of Activity-Based Anorexia” en el

---

3. Probablemente en los últimos cuarenta años la expresión “drive for thinness” ha sido la expresión más utilizada en la literatura para caracterizar a la anorexia nerviosa, de ahí que la elección de Casper de la expresión “drive for activity” pretende retener con este elemento formal el papel central de la hiperactividad.

4. Dada la relevancia de este modelo para el avance en la comprensión de la anorexia nerviosa en humanos nos detendremos a analizarlo en profundidad en el apartado 1.6.

que sus autores, Epling, Pierce y Stefan, presentaban una concepción radicalmente nueva de la anorexia nerviosa. Esta propuesta alternativa en la concepción de la anorexia nerviosa descansaba sobre dos elementos:

- Que una apreciable mayoría de los casos diagnosticados de anorexia “nerviosa” (que los autores estiman hasta un 75%) serían más bien casos de anorexia por actividad (p. 27).
- Que muchos de los síntomas psicológicos que se manejan en la anorexia nerviosa son consecuencia de la inanición (p.43).

Desde una perspectiva fundamentalmente bioconductual, estos autores (Epling & Pierce, 1984, 1988, 1991, 1996; Epling, Pierce & Stefan, 1981, 1983; Pierce & Epling, 1991,1994; Pierce, Epling & Boer, 1986) definen la anorexia por actividad como la disminución de la ingesta -y la consiguiente pérdida de peso- que tiene lugar cuando la actividad física se incrementa de forma progresiva, ya que a medida que aumenta la actividad disminuye el interés por la comida. Según los autores, este círculo vicioso que conduce a una pérdida de peso considerable, y que en los animales acaba inexorablemente en la muerte, sería el responsable en una gran mayoría de casos de anorexia nerviosa en humanos. Este modelo de anorexia basada en la actividad es una propuesta que los autores extienden desde el laboratorio animal y que ha forzado a los clínicos a reconsiderar el papel de la hiperactividad en la génesis y mantenimiento del trastorno.

El segundo elemento sobre el cual se apoya la concepción de anorexia por actividad propuesta por Epling et al. (1983) supone un replanteamiento de las manifestaciones psicopatológicas presentes en la anorexia nerviosa. La primera frase del libro “Solving the anorexia puzzle” fija con rotundidad la posición de los autores con respecto a la anorexia por actividad: “Activity anorexia is not a mental or psychological disorder” (Epling & Pierce, 1991, p.3). Este planteamiento se opone a la concepción tradicional y dominante que



asume que el perfil de personalidad y aspectos emocionales son la causa de la anorexia nerviosa (y a su calificación como trastorno “mental”).

Desde la perspectiva de Epling et al. (1983), los síntomas que presentan las personas con anorexia nerviosa, tales como un estado de ánimo deprimido, retraimiento social, irritabilidad, insomnio y pérdida del interés por el sexo, serían, en gran parte, consecuencia de la propia desnutrición y no la causa. Epling y Pierce (1991) apuntalan esta propuesta en los resultados obtenidos en un estudio sobre la inanición voluntaria realizado por Ancel Keys en la Universidad de Minnesota (Keys, Brozek, Henschel, Mickelsen & Taylor, 1950). En este estudio participaron de forma voluntaria 36 hombres física y mentalmente sanos. Durante los 3 primeros meses los participantes comieron con normalidad y se tomaron medidas de personalidad, de alimentación y del comportamiento. Durante los 6 meses siguientes se redujo la ración de comida a la mitad, de modo que los hombres perdieron aproximadamente el 25% de su peso original. Finalmente, durante los últimos 3 meses del experimento los hombres fueron alimentados de nuevo con normalidad para su rehabilitación.

Una vez instaurada la restricción calórica, estos hombres sufrieron cambios físicos drásticos, además de cambios psicológicos y alteraciones en sus relaciones sociales. En general, se produjo una disminución de la necesidad de sueño, una disminución de la temperatura corporal acompañada de una mayor intolerancia al frío, y una disminución de la frecuencia cardíaca y respiratoria. Además, hicieron su aparición serias molestias gastrointestinales. Simultáneamente a esta serie de cambios físicos, los voluntarios mostraron un incremento de las preocupaciones relacionadas con la comida, llegando incluso a coleccionar utensilios y recetas de cocina. Paralelamente a estos cambios los participantes se volvieron más irritables, incrementándose la ansiedad y la depresión<sup>5</sup>. En el terreno interpersonal, los voluntarios mostraron un creciente

---

5. Los participantes fueron evaluados a través del Inventario Multifásico de Personalidad de Minnesota (MMPI). La restricción calórica produjo cambios dramáticos en los perfiles de personalidad. De acuerdo a los baremos del MMPI todos los participantes “se volvieron neuróticos” e incluso dos participantes tuvieron que abandonar el estudio debido a su sintomatología psicótica.

aislamiento social y desinterés por el sexo opuesto (Franklin, Schiell, Brozek & Keys, 1948). El estudio de Keys muestra que la inanición en sí misma produce cambios de personalidad y de comportamiento que se asemejan a las manifestaciones psicopatológicas características de las pacientes con anorexia nerviosa.

La significación de las consecuencias psicológicas de la inanición en los voluntarios de Keys han sido objeto de debate en cuanto a su utilidad para comprender la psicopatología específica de la anorexia nerviosa. A este respecto hay que tener en cuenta que los 36 voluntarios fueron seleccionados entre más de 100 candidatas por: "gozar de buena salud... ser mentalmente capaces de cooperar al máximo... ser emocionalmente equilibrados... con capacidad para llevarse bien con los compañeros... para vivir en grupo desprovistos de vida privada... capaces de subordinar sus intereses personales a los del grupo... y que estuvieran interesados en la recuperación y en la rehabilitación" (Keys et al., 1950, pp. 64-65). Obviamente, éste no era un grupo de riesgo, máxime teniendo en cuenta que la incidencia de anorexia en la franja de edad de los voluntarios -de 20 a 33 años- es de por sí muy baja, por lo que la probabilidad de que la participación en el estudio hubiera podido provocar un cuadro de anorexia nerviosa es prácticamente nula.

A título anecdótico, y debido a su repercusión en los medios de comunicación, el caso del actor Christian Bale ilustra las consecuencias físicas y psicológicas acarreadas por una drástica pérdida de peso (véase Figura 1). Este actor tuvo que someterse a una pérdida de peso considerable (casi 30 Kg) por requerimiento del papel que tenía que interpretar en la película "El maquinista" (Fernández, 2004).



Figura 1. Aspecto demacrado del actor Christian Bale en la película “El maquinista” (tomado de Fotogramas, Dic. 2004, p.147).

En entrevistas concedidas a diversos medios de comunicación Bale explica que para conseguir este objetivo dejó prácticamente de comer –una manzana y una lata de atún al día-. Y bajo estas condiciones se empezaron a producir una serie de cambios característicos de las pacientes con anorexia nerviosa: se obsesionó con el tema de la comida, soñaba con manzanas y quería probar todo tipo de manzanas posibles (Movieweb, 2004). Además, una vez bajados 30 Kg el actor insistía en seguir perdiendo peso hasta el punto de que los productores, temiendo por su salud, tuvieron que impedirselo (Fotogramas, Dic 2004). También, al igual que las pacientes con anorexia nerviosa, el actor Christian Bale dejó de dormir por las noches, más allá del cumplimiento del papel de un obrero insomne en la película “El maquinista” (El Mundo, 2004).

A modo de resumen, en la Figura 2, se encuentra representada la propuesta de Epling et al. (1983) según la cual la mayoría de los casos de anorexia nerviosa (aunque no todos) serían casos de anorexia por actividad en los que un proceso bioconductual (bottom-up) explicaría los cambios conductuales y psicológicos observados en las pacientes.

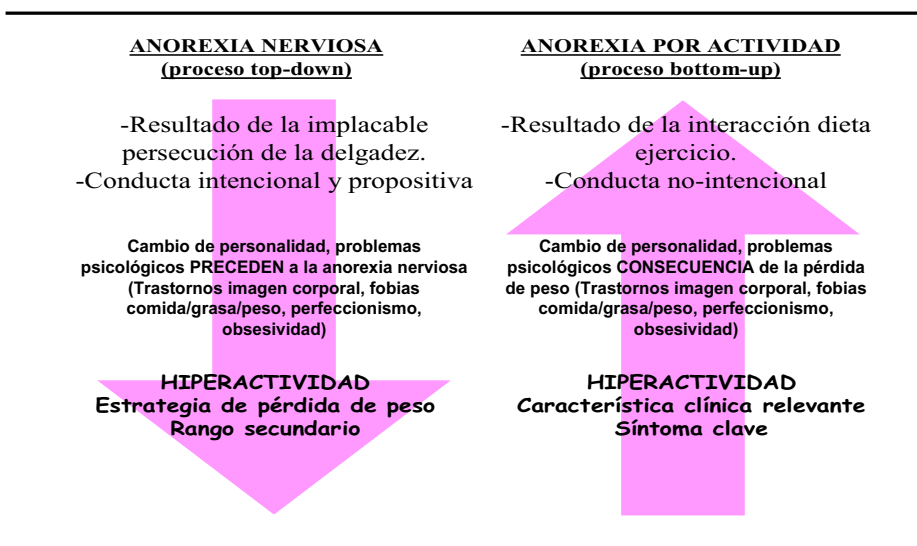


Figura 2. Anorexia nerviosa vs. anorexia por actividad.

Esta alternativa presentada por Epling et al. (1983) contrasta con la perspectiva convencional, dominante en la práctica clínica actual, en la cual serían los cambios psicológicos en un momento particularmente importante del ciclo vital -la adolescencia- los que provocarían el trastorno (un proceso top-down). Desde esta perspectiva convencional, las supuestas distorsiones de la imagen corporal son el motor que guía la implacable persecución de la delgadez, y se considera que la actividad excesiva es una mera estrategia de las pacientes con anorexia nerviosa para "quemar calorías"<sup>6</sup> y acelerar la pérdida de peso. De este modo, la hiperactividad se considera como un síntoma de rango secundario. En consonancia con este papel otorgado a la hiperactividad, su relevancia como criterio diagnóstico en los sistemas de clasificación también es secundaria, como quedó recogido anteriormente en la Tabla 1.

6. Esta concepción utilitarista y estratégica de la actividad física implicando un control voluntario de la paciente se refleja de forma evidente en el ítem nº 16 de la versión española del "Eating Attitudes Test" que reza, "Hago mucho ejercicio para quemar calorías". (Traducción del original: "Think about burning up calories when I exercise" (Garner & Garfinkel, 1979).

Sin embargo, frente a esta concepción mentalista de la anorexia nerviosa, Epling y Pierce (1991) sugieren que la combinación de ejercicio físico excesivo y dieta son los mayores determinantes de la anorexia en humanos. Este planteamiento ha llamado la atención sobre una característica paradójica y peculiar de la anorexia nerviosa como es el aumento exagerado de la actividad física; la hiperactividad. Ya habíamos señalado más atrás las dudas cada vez más crecientes acerca de la relevancia de la amenorrea y de la fobia al peso/miedo a la obesidad, o lo que es lo mismo las distorsiones de la imagen corporal, como elementos esenciales de la anorexia nerviosa. También habíamos adelantado cómo algunos autores comienzan a descubrir en esta actividad física excesiva un elemento central en la propia concepción del trastorno.

A continuación revisaremos algunos atributos de esta característica -la hiperactividad- como son su estabilidad, su prominencia y su precedencia en el cuadro de síntomas.

### **1.5. La hiperactividad: la Cenicienta entre los síntomas de la anorexia nerviosa**

Desde la perspectiva bioconductual propuesta por Epling y sus colaboradores, la hiperactividad se considera un síntoma clave con un posible papel causal en la anorexia nerviosa (Davis, Blackmore, Katzman & Fox, 2005; Epling & Pierce, 1991; Epling et al., 1983).

El término hiperactividad en la anorexia nerviosa es una denominación genérica que engloba los diferentes comportamientos descritos desde el siglo XIX, y que abarcan desde la actividad física excesiva hasta el desasosiego y la vitalidad observados en este tipo de pacientes. Este comportamiento ha sido recogido a lo largo de la prehistoria y de la historia de este trastorno, aunque bajo diferentes rótulos: “conversant with the Living” (Morton, 1684), “resstless and active” (Gull, 1874), “aptitude for the movement” (Lasègue, 1873), “besoin

de locomotion et d'agitation" (Wallet, 1892), "besoin exagéré de mouvement physique" (Janet, 1903), "a general excitation to physical and moral activity" (Janet, 1929), "remarkable strikingly disproportionate abundance of physical energy" (Palmer & Jones, 1939), "relatively extraordinary degree of physical and mental activity" (Berkman, 1948), "overactivity and elation" (Meyer & Weinroth, 1957), "hyperactivity" (Kron et al., 1978), "pursuit of fitness" (Beumont, 1991), "drive for activity" (Casper, 2006)...

Así pues, la hiperactividad en estas pacientes ha sido descrita de forma ininterrumpida durante los 130 años transcurridos desde las primeras descripciones de la anorexia nerviosa de Charles Lasègue (1873) y William Gull (1874). A principios del siglo XX, el exceso de actividad, la implicación en múltiples tareas, las largas caminatas y extenuantes sesiones de actividad física fueron descritos como características intrínsecas a la anorexia nerviosa, aunque le cabe a Pierre Janet ser el primer autor en indagar sobre el origen de esta aptitud para el movimiento, considerando superficial la temprana interpretación de Charcot (1889) que lo vinculaba con el propósito de adelgazar. Para Janet (1903) esta devoción por la actividad estaba conectada a un trastorno más básico, que para él tenía que ver con la supresión de la sensación de fatiga. Como señala en otra publicación:

...a general excitation to physical and moral activity, a strange feeling of happiness, a euphoria, according to the medical term, which are certain but very little-studied facts... The exaltation of the strength, the feeling of euphoria... does away with the need of eating. Our hysterical anorexia is to be traced to much deeper sources than was supposed. (1929, p. 159)

Estas manifestaciones de la hiperactividad en la anorexia nerviosa han presentado una gran estabilidad no sólo a lo largo del tiempo, sino también a través de las diferentes concepciones teóricas (Gutiérrez, Vázquez & Boakes, 2002). La hiperactividad ha sido descrita tanto desde el psicoanálisis (véase a este respecto la recopilación de artículos escritos entre 1868 y 1953, agrupados en un libro ya clásico: *Evolution of psychosomatic concepts* de

Kaufman & Heiman, 1964) como desde la modificación de conducta que en sus primeros informes de tratamiento utilizan el acceso a la actividad física de forma contingente a la ganancia de peso (Blinder, Freeman & Stunkard, 1970). Este reconocimiento trans-temporal y trans-teórico de la hiperactividad se vio todavía más reforzado por el hecho de que en el primer tercio del siglo XX la hiperactividad fue el síntoma utilizado para diferenciar la anorexia nerviosa de otras formas de emaciación causadas por trastornos pituitarios como el Mal de Simmond (Escamilla, 1944) o el de Addison (Farquaharson & Hyland, 1938), ya que en estos trastornos la lasitud es la nota característica. Además, en la segunda mitad del siglo XX, la hiperactividad fue uno de los aspectos centrales que posibilitaron la tarea de demarcación entre la anorexia primaria y la secundaria (aquella anorexia que se presenta en otros cuadros clínicos) (King, 1963).

A partir de la década de los setenta del siglo XX, cada vez más estudios comenzaron a registrar el ejercicio físico excesivo de las pacientes (Casper, 1998; Halmi, 1974; Kron, Katz, Gorzynski & Weiner, 1978; Slade, 1973; Touyz, Beumont & Hook, 1987), siendo el artículo de Kron et al. (1978) el primero en la literatura que plantea la necesidad de otorgar a la hiperactividad una mayor relevancia clínica y su posible rol en la etiología del trastorno. De acuerdo con esta mayor importancia, en los últimos treinta años se han detallado exquisitamente los diferentes patrones de actividad física incrementada en la anorexia nerviosa. En ocasiones se habla de ejercicio físico excesivo (Halmi, 1974), otras veces de hiperactividad (Bruch, 1973), de activación conductual (Casper, 1998) o de ejercicio compulsivo (Brewerton, Stelfson, Hibbs, Hodges & Cochrane, 1995).

El Profesor Beumont, con una dilatada experiencia en la investigación de la anorexia nerviosa, resume en una cita el peso de este síntoma, tan citado como menospreciado:

The majority of our anorexia nervosa patients show some evidence of unhealthy overactivity, particularly when at very low body weights. It

is unusual to find a severely emaciated patient (BMI 15 or below) who is not overactive, and a common pattern is that the activity level increase as weight decreases, until the patient becomes too weak to perform any but the most basic tasks. Even then, restless, aimless hyperactivity persists. On refeeding, this restless hyperactivity becomes less prominent, but other forms of overactivity may re-emerge as the patient physical and psychological state improves. In less emaciated anorexia nervosa patients (BMI 16 to 17,5), and in those patients with eating disorder not otherwise specified who really have a forme fruste of anorexia nervosa, excessive activity is not as common or severe (Beumont, Arthur, Russell & Touyz, 1994, p.26).

La forma más común de hiperactividad se refiere a la actividad física constante, la excesiva laboriosidad y la práctica deportiva más allá de los intentos saludables de mantenerse en forma. La actividad física deportiva alcanza a menudo tintes compulsivos y extenuantes (footing, abdominales, bicicleta, etc.) y suele simultanearse con la evitación de los medios de transporte, ascensores y cualquier otra comodidad. En otras ocasiones, en las descripciones del comportamiento de estas pacientes se menciona una actividad sin propósito; por ejemplo, no querer sentarse, permanecer de pie, estar continuamente de aquí para allá, bailar, etc. Además de la ausencia de propósito específico, el desasosiego, la inquietud y la ansiedad mantienen a las pacientes activas en una aparente guerra sin cuartel al descanso y el reposo (Holtkamp, Hebebrand & Herpertz-Dahlmann, 2004). Todas estas manifestaciones pueden ir sucediéndose en diferentes etapas durante el curso de la enfermedad, y verse reducidas a un estado de permanente desasosiego en los estados de mayor desnutrición (Gutiérrez & Vázquez, 2000; Kron et al., 1978). En el último estudio realizado por Davis et al. (2005) se establece el porcentaje de pacientes con un compromiso activo en el ejercicio excesivo en torno al 80%.

Esta variedad en las manifestaciones de la hiperactividad en la anorexia nerviosa ya había sido reconocida por Hilde Bruch, que a mediados del siglo pasado señalaba cómo la hiperactividad puede encontrarse bajo muy distintas formas:



Hyperactivity is rarely complained of, or even mentioned, by the patients or the parents; but it will be found with great regularity if looked for. Detailed questioning usually reveals that the hyperactivity developed before the noneating phase. Sometimes an existing interest in athletics and sports becomes intensified. Others engage in activities that seem to be aimless, such as walking for miles, chinning and bending exercises, refusing to sit down or literally running around in circles. (1973, p.272)

Sin embargo, además de reconocer la regularidad de este comportamiento exagerado en la esfera motora, si el clínico se molesta en indagar -"if looked for"-, Bruch deja patente otra característica de la hiperactividad que entronca con el planteamiento etiológico de la actividad física en el modelo de anorexia por actividad: **la precedencia del aumento de la actividad antes de cualquier reducción significativa de la ingesta** - "hyperactivity developed before the noneating phase"-.

Así pues, la relevancia de la hiperactividad no se agota únicamente con el señalamiento de la constancia en su registro, en cualquier época y desde cualquier perspectiva, sino en un aspecto menos reconocido y que consiste en la regularidad con que el incremento en la actividad y el ejercicio precede incluso a la restricción de alimentos. Esta precedencia temporal de la exageración del movimiento con respecto a la dieta ya había sido observada por Janet en 1903:

Dans des observations intéressantes que je discutais dans mes cours, j'ai pu montrer que l'exagération du mouvement est quelquefois antérieure au refus d'aliments et précède par conséquent tous ces raisonnements. (p.35)

Estas observaciones tienen más valor en cuanto fueron realizadas por clínicos al margen de cualquier expectativa al respecto. Además, tanto Janet como Bruch se refieren a esta precedencia no como una observación aislada, sino más bien como un rasgo común a la mayoría de las pacientes. Es cuando menos curioso señalar cómo a pesar de afirmaciones tan rotundas por parte de autoridades tales como Hilde Bruch recalcando la precedencia de la actividad

sobre la restricción de alimentos (“He explained that he hit on the idea of eating less when the overexercising became too strenuous”, Bruch, 1966, pp 561-562), la actividad física siga siendo considerada de forma mayoritaria como una mera estrategia para quemar calorías que surge con posterioridad al trastorno.

La afirmación de Hilde Bruch sobre la naturaleza premórbida de este rasgo hiperactivo ha sido confirmada recientemente en un estudio retrospectivo en el que se observó que, un año antes de recibir el diagnóstico de anorexia nerviosa, las adolescentes habían incrementado significativamente su actividad física con respecto a un grupo de control (Davis et al., 2005). Sin embargo, entre las observaciones clínicas de Bruch y el trabajo más reciente de Davis, merece mencionarse el trabajo de Kron et al. (1978) como el primer trabajo en el que la hiperactividad comienza a jugar un rol principal. En un estudio que se ha convertido en la primera estimación objetiva sobre una muestra de pacientes, Kron et al. encuentran que la hiperactividad es uno de los síntomas de la anorexia nerviosa que hace su aparición de forma más prematura, incluso antes de que la restricción de alimentos se convierta en una característica predominante: “hyperactivity was presente in at least 21 of 33 patients prior to their dieting”. (p. 437)

Con posterioridad al estudio de Kron et al. (1978), una investigación encabezada por Beumont confirmó en otra muestra de pacientes esta secuencia en los síntomas de la anorexia nerviosa donde el ejercicio físico aparece con anterioridad, o simultáneamente, a la fase de anorexia propiamente dicha (Beumont, Booth, Abraham, Griffiths & Turner, 1983). Así, estos autores documentaron en una muestra australiana de pacientes con anorexia nerviosa, la simultaneidad de la manipulación de la comida y la actividad física incrementada como los primeros signos reconocibles en todos los casos estudiados. En el caso de aquellas pacientes en las que el ejercicio físico excesivo ocupaba un lugar principal en el cuadro clínico, encontraron que el inicio de la actividad excesiva precedía a la dieta en un 60% de las pacientes (Toyuz, Beumont & Hook, 1987).

Esta precedencia y/o simultaneidad del ejercicio físico excesivo es fundamental ya que puede constituir un factor de riesgo en las poblaciones caracterizadas por niveles de ejercicio, entrenamiento, o demandas de esfuerzo físico elevados (Epling & Pierce, 1991; 1996; Pierce & Epling, 1994, Wheeler, 1996). En este contexto es importante recordar la alta prevalencia de trastornos alimentarios descritos entre mujeres deportistas (Davis, 1992, 1995; Toro, 1996, 2004). En ocasiones, un nivel elevado de actividad acaba convirtiéndose en una forma de entrada a la anorexia nerviosa. De este modo, la hiperactividad no sólo sería un síntoma central de la anorexia nerviosa sino que jugaría un papel decisivo en la etiología del trastorno (Davis et al., 2005; Epling & Pierce, 1996). Como veremos al exponer el modelo animal de anorexia nerviosa, ambos aspectos, ejercicio y dieta, están íntimamente ligados.

La importancia de la hiperactividad en la jerarquía de síntomas no sólo es relevante por su implicación en la etiología y mantenimiento del trastorno, sino por su implicación en el propio agravamiento del mismo y su interferencia con el tratamiento. Tradicionalmente la hiperactividad ha supuesto un gran inconveniente tanto en los tratamientos ambulatorios como en los internamientos hospitalarios (Falk, Halmi & Tryon, 1985). Como ya señalaba Gull en 1874, se trata de un comportamiento difícil de controlar: "The restless activity referred to is also to be controlled, but this is often difficult...The great difficulty was to keep her quiet." (pp. 25-27)

Neutralizar la hiperactividad y el ejercicio compulsivo es un desafío en los internamientos hospitalarios, donde la hiperactividad es una conducta molesta y no deseada (Blinder et al., 1970). Generalmente requiere una vigilancia continua, así como medidas activas de prevención de respuesta. Una ilustración de esa dificultad puede encontrarse en el primer estudio sobre prevención de respuesta donde Mavissakalian (1982) describe el agotador

trabajo de las enfermeras para conseguir que las pacientes guardaran reposo después de la comida.

Sin embargo, esta dificultad en la contención del ejercicio físico se encuentra ya descrita mucho antes de que la actividad estuviera ligada, al menos para los clínicos, a la imagen corporal distorsionada. Un informe de Wallet (1892) a finales del siglo XIX muestra la resistencia de las pacientes a la prescripción de descanso:

Après quelques jours, la balance n'indiquant aucune augmentation de poids et l'aspect de maigreur ne se modifiant pas sensiblement j'interdis les promenades hors du jardin de l'établissement. Le malade se mit alors à le parcourir dans tous les sens du matin au soir, ce qui lui fut également défendu. Elle imagina donc de jouer au volant toute la journée, s'ingéniant à trouver là un moyen de se démener beaucoup. Devant ce parti pris de s'agiter incessamment pour que l'alimentation devenue régulière et suffisante n'amenât point la disparition de la maigreur, ce qui était le but évident de cette jeune fille, d'ailleurs intelligente, je dus lui prescrire le séjour à la chambre et bientôt après, comme elle se livrait à une gymnastique sur place éffrénée, le séjour au lit, ce qu'on n'obtint qu'en lui enlevant ses vêtements. Elle se mit alors, toutes les fois que sa garde s'éloignait d'elle, à sauter sur le lit, à mouvoir bras et jambe, à faire des gambades, des culbuters et des gesticulations de toute sorte, prétendant se soustraire ainsi à la nécessité de reprendre un certain enbonpoint. (p. 277)

A pesar de esta estabilidad a través del tiempo, a pesar de haber sido descrita desde las diferentes concepciones teóricas que han ido sucediéndose en ese tiempo, y a pesar de su aparición muchas veces anterior a la dieta, la hiperactividad ha sido un síntoma de la anorexia nerviosa que ha ocupado de forma sistemática un rango secundario. La poca atención prestada a la hiperactividad en la literatura de la anorexia nerviosa hace que se merezca la calificación de "Cenicienta" entre los síntomas de esta enfermedad (Gutiérrez & Vázquez, 2000). Probablemente, la razón por la cual la hiperactividad se ha visto sistemáticamente relegada a un segundo plano se debe tanto a la ausencia de una teoría que justifique su significación clínica, como a la presencia de otras teorías que le otorgan un papel secundario. Además, en

algunos momentos históricos como, por ejemplo, en la época dominada por la modelización psicoanalítica, el interés de clínicos e investigadores se centró prioritariamente en aspectos más “internos”, en detrimento de los aspectos externos observables.

Sin embargo, en los últimos veinte años, la hiperactividad ha visto cómo su rango en importancia ha ido ascendiendo de Cenicienta a princesa, tanto en las teorizaciones como en el tratamiento de la anorexia nerviosa, donde en ocasiones, la hiperactividad es la piedra angular del tratamiento (Gutiérrez & Vázquez, 2001). Actualmente, comienza a reconocerse cada vez más la importancia de la hiperactividad como una manifestación con significación clínica propia y no como una simple estrategia de pérdida de peso (Casper, 1998, 2006; Davis, 1997; Davis et al., 2005; Kohl, Foulon & Guelfi, 2004; Toyz et al., 1987). De este modo el enfoque más mentalista de la hiperactividad en el trastorno de la anorexia nerviosa se ve sustituido por una perspectiva fundamentalmente psicobiológica (Kohl et al., 2004).

### **1.6. Anorexia Basada en la Actividad (ABA)**

Como ya habíamos adelantado, el giro en la consideración de la hiperactividad y su papel cada vez más relevante en la anorexia nerviosa ha evolucionado de forma paralela, y en gran medida se puede afirmar que ha sido provocado por los resultados de la investigación con el modelo animal análogo de *Anorexia Basada en la Actividad* (ABA) (Epling et al., 1983; Epling & Pierce, 1988, 1991, 1996; Pierce & Epling, 1994). Este modelo animal está siendo de gran utilidad para la comprensión del rol que juega la hiperactividad en el desencadenamiento, mantenimiento y tratamiento de la anorexia nerviosa.

Aunque a lo largo de la tesis nos hemos venido refiriendo al modelo animal de la anorexia nerviosa por excelencia -el modelo ABA-, existen otros

modelos animales posibles. La mayoría de los modelos animales que se han desarrollado para el estudio de la anorexia nerviosa han sido generalmente concebidos para roedores, e incluyen diferentes combinaciones de estrés, restricción de comida y ejercicio físico, todos ellos aspectos clave de la anorexia nerviosa (Connan & Treasure, 1998). Estos modelos se pueden agrupar en dos categorías, modelos ambientales, que implican la manipulación del entorno del animal, y modelos genéticos (Siegfried, Berry, Hao & Abraham, 2003).

Dentro del grupo de los modelos ambientales se incluyen modelos de anorexia basada en el estrés, que incluyen diversos factores estresantes como pinchazos en la cola, baños en agua fría con o sin restricción de comida (Shimizu, Oomura & Kai, 1989) y estimulación cerebral directa a través de una inyección o estimulación eléctrica (Smith, 1989; Marrazzi et al., 1990). Estos modelos son formas más que extremas de provocar la pérdida de peso y conllevan una serie de desventajas, la más grave es que pueden causar lesiones físicas a los animales. Además, estos modelos producen un estrés de tipo temporal, siendo más representativos de la anorexia nerviosa en humanos aquellos modelos que provocan un estrés de tipo crónico. Dentro de los modelos que provocan un estrés de tipo crónico, además del modelo ABA, se incluyen la restricción de comida y el estrés por separación. Ambos modelos producen una disminución de la ingesta y del peso corporal, sin embargo, presentan el inconveniente de que no son capaces de reproducir la hiperactividad tan característica en las pacientes con anorexia nerviosa (Siegfried et al., 2003).

Por otra parte, en los últimos años se ha producido un incremento en la investigación genética de la regulación de la ingesta y del balance energético. En ratones, la mayoría de las mutaciones genéticas realizadas han resultado en fenotipos de obesidad. Por el contrario, son pocos los modelos genéticos en roedores que han logrado con éxito cambiar la regulación de la ingesta, saciedad o gasto metabólico hacia una pérdida de peso, o bien una ingesta

reducida (Siegfried et al., 2003). Esto puede deberse a que, incluso aquellos fenotipos anoréxicos más moderados, provoquen la muerte por inanición o desnutrición (Johansen & Schalling, 2001). Además, una drástica reducción de grasa corporal conlleva esterilidad en las hembras, de modo que ese fenotipo no se transmitiría a las generaciones siguientes. Según esto, parece que las defensas biológicas contra la pérdida de peso corporal son mucho más necesarias que aquellas que impiden la ganancia de peso (Siegfried et al., 2003).

Volviendo al modelo que nos concierne, aunque la denominación de Anorexia Basada en la Actividad aparece en los trabajos de Epling y Pierce (Epling et al., 1983; Epling & Pierce, 1988), el fenómeno del aumento de la actividad de los animales sometidos a restricción de alimentos se conocía desde principios del siglo XX (Finger, 1951; Hall & Hanford, 1954; Reid & Finger, 1955; Richter, 1922; Spear & Hill, 1962). Sin embargo, el primer trabajo desarrollado de forma sistemática acerca del efecto de programas de alimentación restringida sobre la actividad en la rueda se debe a Routtenberg y Kuznesof (1967). Estos autores describieron por primera vez cómo los animales podían morir de inanición cuando eran sometidos de forma simultánea a restricción de alimentos y acceso a una rueda de actividad. Desde entonces, este fenómeno ha venido recibiendo diferentes denominaciones, incluyendo entre otras *auto-inanición* (Routtenberg & Kuznesof, 1967), *úlceras de estrés por actividad*<sup>7</sup> (Paré & Houser, 1973), *anorexia basada en la actividad* (Epling et al., 1981) o *semi-inanición inducida por hiperactividad* (Brooks, Liu & Pirke, 1990).

---

7. Este procedimiento conocido como úlcera de estrés por actividad (A-S) ha sido fundamental en la investigación sobre la formación de úlceras en la porción glandular del estómago de las ratas que se producen habitualmente cuando la combinación de dieta y libre acceso a la rueda de actividad causa una pérdida de peso corporal superior al 30% (Paré & Houser, 1973). Las úlceras raramente aparecen en animales que han perdido hasta un 25% de su peso corporal inicial, que es el criterio utilizado para retirar a los animales del experimento en el modelo ABA, donde las úlceras no son el objetivo principal (Doerries, Stanley & Aravich, 1991). La principal diferencia con el procedimiento ABA se encuentra en la duración del periodo de alimentación restringida, en este caso, de 1 hora de duración.

Con la denominación de Anorexia Basada en la Actividad (ABA) Epling y Pierce (1983; 1988) designaron un fenómeno fácilmente reproducible en el laboratorio animal. En el procedimiento ABA las ratas son simultáneamente sometidas a un programa de alimentación restringida (1.5 horas/día) y tienen libre acceso a una rueda de actividad (22.5 horas/día). Es importante señalar que la cantidad de comida diaria suministrada es más que suficiente para la supervivencia de las ratas, y que además, los animales no están obligados a correr en la rueda de actividad sino que pueden permanecer en la caja adyacente. Sin embargo, bajo estas condiciones experimentales se producen tres efectos sorprendentes por lo inesperado de la respuesta:

1. Se produce un aumento de la actividad en la rueda. Se trata de una respuesta paradójica, ya que una vez que se inicia la restricción de comida el gasto energético se ve drásticamente incrementado, pudiendo pasar de 100 a 20.000 revoluciones diarias en una semana. Esta actividad excesiva supone una amenaza para la supervivencia de las ratas, que gastan más calorías de las que ingieren (Epling & Pierce, 1991). Otra característica de esta actividad es su naturaleza voluntaria<sup>8</sup>, es decir, que se trata de una conducta no forzada que se produce sin ninguna presión externa por parte del experimentador.

2. Se produce una disminución de la ingesta de comida. A medida que la actividad en la rueda se va incrementando la ingesta de comida se va reduciendo hasta el extremo de que algunos animales pueden dejar completamente de comer (Epling & Pierce, 1991). Así, es habitual observar que en ratas que han corrido 7 u 8 kilómetros, cuando se les cierra la rueda y se les sirve comida durante los 90 minutos programados, la eficiencia de la ingesta es muy pobre. Precisamente, la relevancia como modelo de auto-inanición –*self-starvation*– desde el

---

8. Es obvio suponer que la ganancia que obtienen los animales con estos comportamientos sea de naturaleza estrictamente biológica. En la medida en que comportamientos similares están presentes en humanos, esto deja al descubierto la gratuidad de suponer otros motivos de índole psicológica que podrían ser accesorios al propio comportamiento.



estudio de Routtenberg y Kuznesof (1967) se debe a la precisión de Epling y Pierce (1984) al señalar que en la fase final del procedimiento, las ratas con acceso a la rueda comen menos que las ratas del grupo de control que están únicamente sometidas al programa de alimentación restringida sin acceso a la rueda<sup>9</sup>.

3. Pérdida de peso con consecuencias fatales. En este contexto de actividad y de alimentación insuficiente, la pérdida de peso avanza progresivamente, y si este proceso no se interrumpe la pérdida de peso corporal es tal que la mayoría los animales moriría irremediamente de no ser retirados de la rueda de actividad (Routtenberg & Kuznesof, 1967).

En comparación con las ratas sometidas de forma simultánea a un programa de alimentación restringida y a una rueda de actividad, los animales sometidos a cualquiera de estas dos condiciones por separado sobreviven sin mayores dificultades. En el caso de los animales que están únicamente sometidos a un programa de alimentación restringida, aunque pierden peso de forma inicial, se adaptan rápidamente a la restricción de alimentos, incrementando su ingesta diaria de modo que estabilizan su peso corporal y sobreviven (Routtenberg & Kuznesof, 1967).

Por otra parte, en el caso de que los animales tengan acceso a la rueda de actividad 24 horas y comida ad libitum, éstos incrementan su actividad diaria ligeramente (corren alrededor de 2000 vueltas al día), se produce un descenso inicial de la ingesta de comida seguido de un incremento, hasta que el animal se adapta y su peso corporal sigue incrementándose con normalidad (Epling et al., 1983). De modo que es la combinación de un programa de alimentación restringida con el acceso a una rueda de actividad, y no la restricción de alimentación o el acceso a la rueda por sí solas, la que conduce al fenómeno

---

9. "Typically, this 'leveling off' in consumption is well below the food ingestion of control animals, and intake may be termed *suppressed* for these subjects" (p.45, cursiva en el original).

de la anorexia basada en la actividad. Para Epling et al. la actividad física elevada y la restricción de la alimentación son dos aspectos íntimamente ligados que se refuerzan de forma recíproca, de modo que la actividad física intensa disminuye el interés por la comida, mientras que la reducción de la ingesta incrementa la motivación por la actividad física.

La presencia tan llamativa de esta actividad física excesiva y voluntaria de las ratas en la rueda (ausente en otros modelos animales) es la principal responsable de que este modelo sea considerado un modelo análogo de la anorexia nerviosa en humanos<sup>10</sup>.

### **1.6.1. Anorexia basada en la actividad y anorexia nerviosa: similitudes y diferencias**

El modelo ABA no sólo reproduce tres de las características básicas del trastorno en humanos como ya señalamos en el apartado anterior: una alimentación restrictiva, un aumento de la actividad física y una gran pérdida de peso, sino que es una ventana que permite observar las consecuencias nefastas de la interacción entre dieta y ejercicio, dos aspectos que se refuerzan entre sí (Epling & Pierce, 1991, 1994, 1996). Además, el modelo también reproduce otras características de la anorexia nerviosa tales como la inhibición de la función reproductora, la hipotermia, el insomnio y la aparición de úlceras estomacales.

#### **1.6.1.1. Interacción dieta-ejercicio: un círculo vicioso**

La interferencia de la actividad física sobre la ingesta es un hecho que está bien establecido en fisiología. Hace más de 50 años que se conoce cómo la actividad física intensa inhibe el apetito, llegando incluso a suprimirlo

---

10. La restricción de alimentos combinada con el acceso a la rueda de actividad también ha sido empleada como modelo animal para el estudio de la respuesta del sistema inmunológico al estrés (Hara, Manabe & Ogawa, 1981) y para el estudio del trastorno obsesivo compulsivo (Altemus, Glowa & Murphy, 1993).

temporalmente (Blundell & King, 2000; Edholm, Fletcher, Widdowson & McCance, 1955; Epstein, Masek & Marshall, 1978). Por ejemplo, durante los días de entrenamiento militar, los soldados comen menos que otros días que se caracterizan por una menor exigencia física. Así pues, la ingesta calórica en los días de entrenamiento se ve significativamente reducida en comparación con otros días de menor esfuerzo físico (Edholm et al., 1955). Otra muestra del efecto inhibitorio de la actividad física sobre el apetito procede de un estudio con niños obesos: cuando los niños son sometidos a un periodo de ejercicio físico previo al momento de la comida se puede observar una reducción voluntaria en el consumo de alimentos (Epstein et al., 1978).

Este hecho se observa con rotundidad en el laboratorio animal en ratas con alimentación *ad libitum* (Lattanzio & Eikelboom, 2003). El simple hecho de permitir el acceso a la rueda de actividad durante dos horas diarias redujo la ingesta de los animales en un 15% durante los ocho primeros días, con la consiguiente reducción en la ganancia de peso corporal en comparación con el grupo de control sin actividad, diferencia que se mantuvo durante los 24 días que duró el experimento. Curiosamente, aunque el nivel de actividad fue significativamente superior para un tercer grupo de ratas con 24 horas de acceso a la rueda, el efecto de la actividad sobre la ingesta y el peso corporal fue similar al del grupo que sólo tuvo dos horas diarias de actividad; esto pone de relieve el impacto transitorio que puede llegar a tener la actividad física, por mínima que sea, sobre el consumo de comida, y por consiguiente, sobre el peso corporal.

En este estudio de Lattanzio y Eikelboom (2003), el hecho de que los animales con comida *ad libitum* reduzcan la ingesta precisamente en una situación en la que el gasto energético se incrementa sigue causando perplejidad. Una posible explicación parece residir en la reducción de la capacidad reforzadora de la comida cuando el ejercicio está presente. Esto se muestra claramente en un estudio realizado por Epling y Pierce (1991) en el que se compararon las presiones de palanca para conseguir comida de los

animales que habían tenido acceso a la rueda de actividad el día anterior en comparación con los que no habían tenido. Todos los animales, con o sin acceso a la rueda, habían sido privados de comida. Durante el test propiamente dicho, los animales tenían que presionar una palanca para conseguir comida. Ésta era dispensada según un programa operante de dificultad creciente, de modo que para la primera bola de pienso eran necesarias 5 pulsaciones, mientras que para las posteriores se requerían un mayor número de pulsaciones (10, 15, 20, 25, etc.). De este modo se mide el esfuerzo que el animal realiza para conseguir la comida, lo que indica el valor reforzador de la misma. Este valor reforzador viene indicado por el punto en el que la rata se da por vencida y deja de presionar la palanca para obtener comida. En este caso, el punto de rendición para los animales que el día anterior habían tenido acceso a la rueda se situó en torno a las 38 presiones de palanca, mientras que los animales que no habían corrido en la rueda eran capaces de dar hasta 200 presiones sucesivas en la palanca para conseguir la bola de pienso. Según los autores este experimento muestra cómo el ejercicio físico reduce el valor reforzador de la comida, o lo que es lo mismo que “el ejercicio parece sustituir a la comida” (Epling & Pierce, 1991, p.144).

Además, el modelo animal aporta fundamentalmente una perspectiva desde el otro polo de la interacción, al mostrar que la restricción de la alimentación produce un incremento progresivo y exagerado de la actividad física en los animales. Desde esta perspectiva, la hiperactividad descrita en pacientes con anorexia nerviosa deja de ser tan paradójica y se vuelve más comprensible y natural. Este encadenamiento que lleva de la dieta al ejercicio queda recogido en un estudio realizado por Epling y sus colaboradores (Pierce et al., 1986) en el que las ratas tenían que presionar una palanca para poder acceder a la rueda de actividad (en un procedimiento similar al descrito previamente en el estudio sobre el valor reforzador de la comida). Los autores encontraron que la respuesta de presión de la palanca para acceder a la rueda aumentaba a medida que los animales perdían peso. Esta respuesta era particularmente llamativa en las hembras que al alcanzar el 75% de su peso

inicial llegaban a duplicar las pulsaciones de la palanca en comparación con las pulsaciones realizadas cuando estaban en el 100% de su peso corporal. Sin embargo, aunque el valor reforzador del acceso a la rueda aumentaba a medida que los animales perdían peso, cuando la pérdida de peso corporal era superior al 30%, los animales ya no presionaban tanto la palanca como en los días anteriores. Obviamente, cuando animales o humanos se encuentran en un estado avanzado de inanición la actividad disminuye y entran en un estado de letargia (Epling & Pierce, 1996).

En cierta manera estos estudios dan una pista sobre la “aptitud para el movimiento” que intrigaba a Lasègue, aunque no explican la función de este comportamiento tan peculiar. A este respecto existen diversas explicaciones que van desde explicaciones teleológicas, por ejemplo, la que plantea esa actividad incrementada como un recurso adaptativo que aumenta las posibilidades de encontrar otras fuentes de alimentos (Epling & Pierce, 1996; Fessler, 2002), hasta otras en las que las consecuencias de la acción son más inmediatas. Este sería el caso de la explicación que vincula el mantenimiento de la actividad física a los mecanismos de reforzamiento endógeno, puesto que el ejercicio físico incrementa la actividad dopaminérgica. (Lambert & Porter, 1992). Otra explicación proximal plantea que el incremento de la actividad física sería una forma de mantener la temperatura corporal una vez que el aporte calórico se ve restringido (Gutiérrez et al., 2002, 2006).

Estas tres explicaciones serían aplicables tanto a los animales como a las pacientes con anorexia, mientras que algunas otras sólo tendrían sentido para el comportamiento del animal, como, por ejemplo, las teorías que plantean que la actividad es un caso especial de reforzamiento inducido por el programa de alimentación (Levitsky & Collier, 1968), o como una conducta adjuntiva (Gutiérrez, 2005; Gutiérrez & Pellón, 2002).

### **1.6.1.2. Función reproductora, hipotermia e insomnio y úlceras estomacales**

Como ya habíamos indicado con anterioridad, según los sistemas de diagnóstico actuales (véase Tabla 1) la amenorrea es un criterio necesario para el diagnóstico de anorexia nerviosa en mujeres. En ratas sometidas a restricción de alimentación y con acceso a la rueda de actividad el ciclo estral se ve interrumpido, mientras que las ratas sometidas únicamente a un programa de alimentación restringida pero sin acceso a una rueda de actividad continúan mostrando un ciclo estral regular (Dixon, Ackert & Eckel, 2003; Watanabe, Hara & Ogawa, 1992). Esta interferencia sobre la función reproductora está relacionada con la pérdida de peso más acentuada para las ratas con acceso a la rueda, y con los niveles de actividad física tan elevados para las ratas activas (Dixon et al., 2003).

Esto último encuentra su parecido en humanos en el hecho de que la pérdida de la menstruación es un aspecto relativamente común en mujeres deportistas (Epling & Pierce, 1996; Toro, 1996, 2004). Desde hace años se conoce la estrecha relación entre peso corporal y función gonadal en bailarinas, corredores de maratón y en general en todos los individuos con depósitos grasos escasos que tienen con frecuencia trastornos en el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal; con disminución de las concentraciones de testosterona en los varones y de estradiol en las mujeres similares a los de las pacientes con anorexia nerviosa (Birmingham & Beumont, 2004). Así pues, tanto la investigación realizada en el laboratorio animal, como los datos obtenidos en humanos, ponen de relieve el papel que juega la actividad física en la aparición de la amenorrea en pacientes con anorexia nerviosa.

Además, las ratas sometidas a restricción de alimentación y con acceso a la rueda de actividad muestran otras dos características como son la disminución de la temperatura corporal o hipotermia (Hillebrand, Rijke, Brakkee, Kas & Adan, 2005; Morrow et al., 1997; Paré, 1977) y las alteraciones

del sueño (Watanabe, Hara & Ogawa, 1990) que también están presentes en las pacientes aquejadas de anorexia nerviosa (Crisp, 1985; Davies, Fohlin & Thorén, 1979a, 1979b; Luk & Wakeling, 1980, 1981, 1982; Nishita, Knopes, Ellinwood & Rockwell, 1986; Smith, Ovesen, Chu, Sackel & Howard, 1983; Wakeling & Russell, 1970).

Las ratas son animales nocturnos y por lo general son más activas durante el ciclo de oscuridad y duermen durante las horas de luz. Sin embargo, en el procedimiento ABA, a medida que las ratas van perdiendo peso se produce un desbaratamiento del ritmo circadiano de sueño y vigilia con un incremento de la actividad durante las horas de luz (Watanabe et al., 1990). Esta característica, equiparable a los problemas de sueño en humanos, está íntimamente relacionada con la hipotermia. A modo ilustrativo, exponemos una fotografía tomada en el laboratorio de la School of Psychology de la Universidad de Sydney durante un experimento realizado con el modelo ABA, donde la rata del panel izquierdo estaba sometida a una temperatura ambiental de 21°C, mientras que la rata del panel de la derecha estaba a 29°C (véase la Figura 3).



Figura 3. Ratas sometidas al procedimiento ABA bajo diferentes temperaturas ambientales.

Ambas ratas habían sufrido una pérdida del 20% sobre su peso corporal inicial, ya no tenían acceso a la rueda de actividad pero todavía seguían

sometidas al programa de alimentación restringida (Gutiérrez et al., 2006). Bajo estas condiciones se puede observar cómo la rata a 21°C se acurruca, se le eriza el pelo (piloerección debida a la hipotermia) y apenas consigue conciliar el sueño, mientras que la rata a 29°C está estirada (sin peligro de disipar calor) y duerme plácidamente.

Finalmente, otro aspecto interesante con respecto a la similitud entre el modelo animal y las complicaciones médicas presentes en la anorexia nerviosa es el desarrollo de úlceras estomacales. Se ha observado que las ratas sometidas al procedimiento ABA que sufren una pérdida de peso corporal superior al 30% de su peso corporal inicial desarrollan úlceras en la porción glandular del estómago (Paré & Houser, 1973). Por otra parte, el desarrollo de úlceras estomacales es una complicación médica que se encuentra en, al menos, un 16% de las pacientes con anorexia nerviosa (Hall & Beresford, 1989). Este aspecto, que no suele ser muy mencionado en la literatura sobre el trastorno humano fue descrito por primera vez en un paciente masculino en 1930 (Berkman, 1930).

Estas similitudes entre las consecuencias de la combinación de dieta y ejercicio en los animales y las manifestaciones clínicas presentes en las pacientes con anorexia nerviosa son la base de la concepción del procedimiento ABA como modelo análogo al trastorno en humanos. Sin embargo, el término análogo, significa que la correspondencia dista de ser completa, y en el caso que nos ocupa además de las semejanzas existentes entre la anorexia basada en la actividad en ratas y la anorexia nerviosa en humanos, también existen grandes diferencias, lo cual plantea algunos inconvenientes a la hora de utilizar el procedimiento ABA como modelo análogo de la anorexia nerviosa.



### **1.6.1.3. Limitaciones del modelo animal ABA**

El argumento principal que desacredita el uso del modelo ABA como modelo análogo de un trastorno mental como la anorexia nerviosa, es su condición de modelo animal. Animal en este contexto significa en primer lugar, la ausencia de lenguaje y capacidad de simbolización, y por tanto, la incapacidad de introspección y de autoinformar sobre los estados emocionales, los contenidos psicológicos y el entramado cognitivo que subyace a la anorexia nerviosa. Una segunda limitación de todo modelo animal es su incapacidad para reproducir la matriz sociocultural y el entorno familiar donde se desarrolla el trastorno. En palabras de Coscina & Garfinkel (1991):

It is not posible to use animal data to learn about the attitudinal dimensions, in part related to societal ideals, of the excessive concern with body weight and shape, that are so characteristic of human eating disorders (p. 238).

Según este planteamiento, que subraya el papel central de las actitudes hacia la comida, el peso y la imagen corporal, los conflictos psicológicos son la causa de los trastornos de la alimentación. Y desde esta perspectiva, en la que los procesos simbólicos son un elemento cardinal, el modelo ABA, así como cualquier otro modelo animal, sólo podría aspirar a ser un modelo parcial de los síntomas del trastorno humano, pero nunca un modelo útil para abordar la etiología del trastorno (Mrosovsky, 1984). De acuerdo con estos planteamientos, la utilidad de los modelos animales se vería limitada a definir el curso de la anorexia nerviosa, las complicaciones fisiológicas y los factores que la mantienen una vez que el trastorno se ha desarrollado.

Estando básicamente de acuerdo con este papel de los modelos animales, y a pesar de las dos limitaciones señaladas, no se debe despreciar cualquier aportación que los modelos animales puedan hacer en el terreno de la etiología. El abandono prematuro de la investigación animal podría transmitir un mensaje engañoso acerca de los avances que, hasta la fecha, se han logrado al margen de los modelos animales.

La frase que abre cualquier texto sobre la anorexia nerviosa afirma que es un trastorno multifactorial que reconoce la influencia de factores sociales, culturales, familiares, psicológicos y genéticos. Sin embargo, esta denominación de "multifactorial", muy extendida en psiquiatría, no encierra tanto la evidencia que aportan cada uno de esos factores, como la ausencia de evidencia sobre cada uno de ellos en particular. La utilización del término multifactorial tiene dos debilidades evidentes: por un lado, no especifica si el trastorno es la suma de muchos y diferentes factores, o el resultado de la interacción de todos ellos. Por otra parte, el término multifactorial tampoco indica la jerarquía y/o necesidad de cada uno de esos factores que permita predecir una secuencia lineal de efectos, o la mera probabilidad de interacciones predecibles en el sistema de elementos. Además, la mayoría de los factores incluidos bajo el paraguas de lo multifactorial, y que supuestamente contribuyen al desarrollo de la anorexia nerviosa, carecen de especificidad con respecto a la anorexia nerviosa (Campbell, 1995).

Una segunda objeción al modelo ABA resalta la incongruencia de la analogía del concepto, y del propio proceso, de auto-inanición en las ratas y en el trastorno humano. Esta refutación señala que mientras en el trastorno humano la restricción de alimentos es "voluntaria"<sup>11</sup>, la auto-inanición en las ratas necesita ser iniciada por el experimentador. Obviamente, es cierto que el inicio de una dieta, o el deseo de perder unos kilos por parte de una adolescente, se puede considerar un acto voluntario en el contexto de abundancia de comida<sup>12</sup>. En cambio, en el laboratorio la rata no reduce su

---

11. El término voluntario, o el prefijo auto, referido a la expresión "auto-inanición" (término poco frecuente en la literatura en castellano pero muy utilizado en inglés "self-starvation" como sinónimo de anorexia nerviosa) indica que la reducción de comida se da al margen de otra enfermedad (por ejemplo, en la fase final de procesos de cáncer o en la anorexia secundaria donde la auto-inanición es secundaria a otro trastorno psiquiátrico) y como resultado del libre albedrío de las personas. En este contexto, el prefijo auto significa que no se necesita ningún elemento o fuerza ajena a ese proceso autorreforzante para explicar la reducción de la ingesta o el aumento de la actividad física.

12. Es curioso que aquellas personas que consideran inadecuado el modelo animal en este punto sean las que con más fuerza señalan el papel de la presión social y de la cultura de delgadez sobre las adolescentes, lo cual desprovee de voluntariedad el acto de ponerse a dieta, que pasaría a ser concebido como el resultado de una presión externa (por lo tanto forzado). Este reconocimiento de la determinación social del trastorno es lo que mueve a tomar medidas como la decisión de exigir que las modelos de la pasarela Cibeles (otoño 2006) superasen un BMI de 18.

ingesta en un contexto de comida ad libitum, sino que es necesario que el experimentador sitúe a la rata en un contexto experimental que restringe el acceso a la comida a una única sesión de 90 minutos diarios.

Sin embargo, siendo cierta esta diferencia de inicio del proceso en humanos y en el laboratorio, es errónea la suposición de que la restricción de alimentos en la anorexia nerviosa es voluntaria a lo largo de todo el proceso de enfermedad, desde la fase inicial de escarceos con dietas hasta que el proceso descarrila totalmente en la fase de inanición severa que puede acabar en la muerte. La imputación de voluntariedad a la auto-inanición que tiene lugar durante la fase avanzada del trastorno es a todas luces errónea. Precisamente, el fracaso de cualquier intento de psicoterapia con estas pacientes se relaciona con este error de suponer que el rechazo a la comida en la anorexia nerviosa es una conducta bajo el control ejecutivo de la agencia psicológica. La enorme dificultad de las pacientes para detener el proceso y la baja remisión espontánea del trastorno reflejan el hecho de que el proceso se "les ha ido de las manos" y que es la paciente la que se encuentra en manos de un proceso que supera su capacidad de decisión.

Por otra parte, otra debilidad señalada al modelo ABA destaca el hecho de que las ratas no presentan pérdida de apetito. Es cierto que, técnicamente hablando, el término de auto-inanición aplicado a las ratas es cuestionable ya que a pesar de que la ingesta puede llegar a ser nula una vez que la actividad es excesiva, inicialmente, la ingesta tiende a aumentar continuamente (Dwyer & Boakes, 1997). Además, cuando las ratas son retiradas del procedimiento experimental una vez que han perdido el 25% de su peso corporal inicial, y se permite el acceso ad libitum a la comida, los animales se alimentan adecuadamente y recuperan peso rápidamente hasta alcanzar un peso corporal saludable (Boakes, Mills & Single, 1999). Sin embargo, en las pacientes la auto-inanición se mantiene en el contexto permanente de abundancia de comida. No obstante, con ser cierto este matiz, como ya señalamos atrás, tampoco el término anorexia nerviosa es correcto puesto que

las pacientes no presentan pérdida real de apetito hasta estados muy avanzados de la enfermedad.

Todas estas objeciones, sin embargo, solo hacen delimitar la validez del modelo, pero no invalidarlo totalmente, ya que su valor, creemos, reside en la ventana experimental que permite observar el proceso en el que el aumento progresivo de la actividad física acaba interfiriendo en la ingesta, estableciéndose un círculo vicioso sin escapatoria. Este es el momento en el que el modelo es un análogo útil para entender el encadenamiento de la dieta restrictiva y el ejercicio físico en las pacientes. Quizás el modelo animal no sea útil para esclarecer las causas del trastorno en humanos, pero sí puede ser una ayuda eficaz para estudiar las condiciones que lo mantienen.

Llegados a este punto, y después de haber analizado las similitudes y diferencias existentes entre el modelo animal ABA y el trastorno en humanos, es pertinente dedicar un párrafo como mínimo a la disquisición sobre el concepto de analogía y la utilización de modelos animales para el estudio de trastornos humanos. Históricamente, el debate sobre la utilidad de los modelos animales ha girado de forma reiterada en torno al análisis de las similitudes y diferencias con el objeto representado. De este modo, la esencia del debate se ha concentrado en la cuestión, un tanto bizantina, de si un modelo animal determinado es lo suficientemente similar como para justificar su utilidad en la investigación de trastornos humanos. Pero, ¿es la analogía el aspecto central para juzgar lo apropiado de un modelo animal? En un artículo reciente sobre la investigación con modelos animales, Shapiro (2004) propone una alternativa a la dimensión de semejanzas y diferencias para evaluar la utilidad de un modelo animal. Desde esta perspectiva, la utilidad de un modelo animal no dependería tanto de su grado de semejanza con el fenómeno que pretende representar, como de su capacidad para generar hipótesis acerca del objeto modelado y también de su capacidad para mejorar los tratamientos. Según esto, al margen de las similitudes y diferencias, la utilidad del modelo ABA dependerá de su capacidad para generar nuevas hipótesis y de mejorar el tratamiento de las

pacientes con anorexia nerviosa, ambos aspectos constatados en diversas ocasiones a lo largo de este primer capítulo.

### **1.6.2. Factores relacionados con el desarrollo de anorexia basada en la actividad**

Aunque el modelo ABA es un modelo robusto que permite inducir anorexia en la mayor parte de los animales en diferentes laboratorios a lo largo del mundo, este efecto puede acelerarse, retrasarse, e incluso evitarse si se modifican algunos de los parámetros experimentales como la temperatura ambiental, la experiencia previa en la rueda y la distribución de la comida a lo largo del día; o si se escogen determinadas características individuales en los sujetos experimentales como la edad, el peso, el sexo o las experiencias tempranas. Este último aspecto nos va a permitir entroncar con el capítulo 2 sobre la teoría del apego, y su posible relevancia para el estudio de la anorexia nerviosa.

Como veremos a continuación, algunas de estas variaciones en las condiciones experimentales del modelo ABA que modulan el desarrollo de la anorexia en animales guardan cierto paralelismo con las circunstancias bajo las cuales se desarrolla y mantiene el trastorno en humanos.

#### **1.6.2.1. Pre-exposición a la rueda y nivel basal de actividad**

En 1968, Routtenberg sugirió que la experiencia previa en la rueda de actividad era una forma de reducir la auto-inanición en las ratas. Este autor planteó que cambiar a las ratas de la caja donde se alojaban habitualmente a la rueda de actividad causaba estrés a los animales por la novedad del contexto. Este cambio de contexto sería el responsable del descenso en el consumo de comida y por lo tanto, un agravamiento del proceso de auto-inanición. En el estudio de Routtenberg la mitad de los animales fueron expuestos 3 horas

diarias a la rueda de actividad durante 13 días anteriores a la fase experimental. Sin embargo, la adaptación previa a la rueda no fue suficiente para prevenir la auto-inanición.

Una adaptación más extensa a la rueda fue llevada a cabo por Paré (1975) con un periodo de acceso libre a la rueda de 24 horas diarias durante 10 días. Sin embargo, este periodo de habituación a la rueda, lejos de proteger a las ratas, produjo el efecto contrario. La habituación a la rueda, una vez instaurado el programa de restricción de comida, produjo un nivel de actividad en la rueda significativamente más elevado. De modo que la adaptación a la rueda no sólo no protegió a las ratas de la auto-inanición sino que redujo el tiempo de supervivencia en el experimento.

En consonancia con los resultados obtenidos por Paré (1975), Boakes y Dwyer (1997) investigaron el efecto de experiencia previa en la rueda bajo la condición de alimentación ad libitum, y encontraron que el peso de las ratas durante los días de pre-exposición a la rueda era significativamente inferior al del grupo que no tuvo acceso a la rueda. Una vez instaurado el programa de alimentación restringido, el grupo que había recibido pre-exposición a la rueda disminuyó su peso mucho más rápidamente. De este modo, y en contra de lo inicialmente propuesto por Routtenberg (1967), la pre-exposición a la rueda de actividad incrementa los niveles de actividad y acelera la pérdida de peso de los animales, de modo que no previene sino que precipita el desarrollo de la anorexia basada en la actividad en ratas (Boakes & Dwyer, 1997; Dixon et al., 2003; Gutiérrez, 2005; Gutiérrez & Pellón, 2002; Paré, 1975).

Aunque la pre-exposición a la rueda influye en el nivel de actividad inicial de las ratas, existe una gran variabilidad interindividual en el nivel de actividad basal de las ratas. Esta característica individual se ha revelado fundamental para el desarrollo de la anorexia basada en la actividad. Así, Paré (1975) registró la actividad de las ratas durante 10 días en los cuales tuvieron libre acceso a la rueda y 24 horas de acceso a la comida. Después, seleccionó a las

16 ratas más activas y a las 14 menos activas según su actividad media diaria y las sometió a una hora de acceso diario a la comida y 23 horas de acceso a la rueda. Una vez iniciado el programa de alimentación restringida, encontró que las ratas que habían mostrado un nivel de actividad basal elevado incrementaban significativamente su actividad en la rueda y morían significativamente antes en comparación con las ratas que habían mostrado un nivel reducido de actividad basal. Salvando las diferencias, esto recuerda la elevada prevalencia de anorexia nerviosa en aquellos grupos que presentan niveles de actividad elevados, por ejemplo, entre mujeres deportistas (Davis, 1992, 1995; Garner, Rosen & Barry, 1998; Johnson, Powers & Dick, 1999; Smolak, Murnen & Ruble, 2000; Sundgot-Borgen, 1994; Toro, 1996, 2004; Yates, Leehey & Shisslak, 1983; Yates, 1991).

#### **1.6.2.2. Temperatura Ambiental**

Un parámetro experimental que puede, por una parte, prevenir, retrasar, o acelerar el desarrollo de la anorexia basada en la actividad, y por otra parte, contribuir a la recuperación de las ratas una vez que una pérdida de peso sustancial ha tenido lugar es la temperatura ambiental (Gutiérrez et al., 2002).

La historia del descubrimiento de este parámetro es un caso más de *serendipity*, y se inicia a partir de la observación casual de una anomalía en el funcionamiento de un termostato que supuso un incremento en la temperatura del laboratorio. Como consecuencia de ese cambio inesperado, las ratas corrieron significativamente menos y sobrevivieron más días bajo las condiciones de restricción de alimentación y acceso a la rueda que las ratas a temperatura ambiente estándar. Sin embargo, nadie pareció dar mucha importancia a ese accidente que permaneció como una simple anécdota (Lambert, 1993). La propia investigadora llegó a realizar un experimento para comparar el desempeño de las ratas sometidas a un programa de alimentación restringida y acceso a una rueda de actividad bajo dos temperaturas ambientales diferentes: 25°C vs. 19.4°C. Las ratas que estuvieron sometidas a

una temperatura ambiental más elevada corrieron menos y sobrevivieron significativamente más tiempo. Lamentablemente, esos resultados nunca fueron publicados ya que la autora simplemente los presentó en una reunión de la *Southern Society for Philosophy and Psychology* (Lambert & Hanrahan, 1990).

La razón de este desinterés se debió, sin duda, a que la línea de trabajo de la autora se centraba en la producción de úlceras, y la temperatura estudiada (25°C) fue insuficiente para anular el proceso. Sin embargo, este accidente dio pie a una serie de experimentos en la Universidad de Santiago de Compostela, en colaboración con la School of Psychology de la Universidad de Sydney. Estos estudios han demostrado que la temperatura ambiental en la zona termoneutral (entre 27°C y 30°C) inhibe totalmente el desarrollo de la anorexia basada en la actividad en las ratas (Gutiérrez et al., 2006), o más importante todavía, permite que las ratas se recuperen una vez que el proceso se ha iniciado y la posibilidad de recuperación es prácticamente nula (Gutiérrez et al., 2006; Losada et al., 2001).

Este poderoso papel modulador del calor ambiental en el laboratorio está teniendo repercusiones no sólo en el tratamiento de las pacientes con anorexia nerviosa (Bergh, Brodin, Lindberg & Sodersten, 2002; Birmingham, Gutiérrez, Jonat & Beumont, 2004; Gritzner, Birmingham, Gutiérrez & Wong, 2005; Gutiérrez & Vázquez, 2001; Vähäsöini, Vázquez, Birmingham & Gutiérrez, 2004), sino que ha dado pie a una reconsideración del papel de la temperatura ambiental y de la latitud geográfica en la incidencia diferencial de la anorexia nerviosa (Vázquez, Carrera, Birmingham & Gutiérrez, 2006).

### **1.6.2.3. Programa de alimentación**

La duración<sup>13</sup> del periodo de alimentación es otro parámetro fundamental

---

13. Otras características con respecto al parámetro de alimentación que también pueden modular los efectos del modelo ABA son: el tipo de comida empleada (Boakes & Juraskova, 2001), la alimentación durante las horas de luz en comparación con la fase nocturna del ciclo luz-oscuridad (Dwyer & Boakes, 1997; Hara et al., 1981) y la experiencia previa con un programa de alimentación restringida (Boakes & Dwyer, 1997).



para el desarrollo de la anorexia basada en la actividad. Routtenberg y Kuznesof (1967) probaron con diferentes periodos de alimentación (30, 45 y 60 minutos) y encontraron que el periodo de 60 minutos era el más apropiado para producir diferencias en auto-inanición entre el grupo de ratas con acceso a la rueda de actividad y el grupo de control sin acceso a la rueda. En investigaciones posteriores, por parte de los autores que acuñaron la denominación del modelo ABA, se incrementó la duración inicial del periodo de alimentación de 1 hora al actual periodo de 1.5 horas con el objetivo de aumentar la tasa de supervivencia de las ratas del grupo de control (Pierce & Epling, 1991). Sin embargo, si el poco tiempo que la rata tiene acceso a la comida se reparte a lo largo del día en varios periodos de alimentación más breves en duración pero más frecuentes, entonces, la supervivencia de los animales se incrementa (Lambert & Peacock, 1989; Tsuda, Tanaka, Jimori, Ida & Nagasaki, 1981). Por ejemplo, Tsuda et al. (1981) encontraron que el efecto era más severo cuando los animales tenían un único periodo de acceso a la comida en comparación con dos periodos de alimentación diarios, manteniendo siempre constante el tiempo de acceso total a la comida.

La explicación de esta mayor supervivencia tiene que ver con la dureza que supone para la rata una única oportunidad de acceso a la comida, teniendo en cuenta su patrón regular de alimentación que consta de breves visitas al comedero. Es curioso que el patrón de restricción de las pacientes las acabe conduciendo a una única y mínima comida al día, como si en este caso se acercaran al patrón impuesto a la rata en el laboratorio. Frente a esta pauta restrictiva, la renutrición de las pacientes con anorexia nerviosa consiste en el suministro de pequeñas cantidades de alimentos varias veces repartidas a lo largo del día, como ya había sido señalado por Gull (1874).

#### **1.6.2.4. Características individuales**

La edad y el peso inicial de la rata son las características individuales más relevantes en el afrontamiento de las condiciones experimentales del modelo

ABA. El entorno ABA tiene consecuencias tanto más nefastas cuanto más jóvenes son las ratas, ya que éstas son más activas y pesan menos que las ratas de mayor edad (Hebebrand et al., 2003). En consecuencia, el tiempo de supervivencia es inversamente proporcional a la edad de los animales (Hara & Ogawa, 1983; Paré, 1975). La explicación de la mayor supervivencia de las ratas de mayor edad está vinculada al peso corporal y más concretamente a la adiposidad. Las ratas de mayor edad y por lo tanto más pesadas toleran mejor la escasez de comida en la medida en que acumularon previamente más tejido adiposo (Yi & Stephan, 1996). De este modo, ratas de la misma edad pero con menor peso inicial son más vulnerables a la anorexia por actividad (Boakes & Dwyer, 1997; Paré, 1980). También se encuentran diferencias en los niveles de actividad en la rueda en función de la edad de los animales. Las ratas más jóvenes son más activas que las de más edad<sup>14</sup>. Es interesante, una vez más, que las ratas sean más susceptibles al ABA durante su adolescencia, de forma similar a lo que ocurre en el trastorno humano cuya incidencia es mayor entre los 15 y 19 años (Hoek & van Hoeken, 2003).

Con respecto a las diferencias sexuales en ratas, la mayoría de los estudios que han utilizado el modelo de ABA se han realizado con ratas macho. Los estudios que han abordado el tema de las diferencias sexuales en ratas bajo condiciones de restricción de alimentos y exposición a la rueda de actividad son escasos (Gutiérrez, 2005; Gutiérrez & Pellón, 2002). Con frecuencia, se observa una actividad en la rueda más elevada para las hembras (Boakes et al., 1999), mientras que la pérdida de peso corporal es más rápida para los machos (Doerries et al., 1991). Por lo general, los resultados hallados con hembras son más confusos que los hallados con machos, y esto puede deberse a que los niveles de actividad e ingesta en ratas hembra varían a lo largo de las distintas fases del ciclo estral. Durante la fase estro se produce un incremento de la actividad locomotora y una disminución

---

14. La actividad espontánea en ratas macho alcanza el nivel máximo después de 4-5 semanas y se mantiene durante 7-8 semanas. Después desciende hasta un 60% del nivel máximo durante 4-5 meses y vuelve a descender de nuevo hasta el 25% entre los 8 y los 12 meses de edad (Mondon, Dolkas, Sims & Reaven, 1985). En ratas hembra, el incremento de actividad es mayor y se prolonga durante más tiempo (Tokuyama, Saito & Okuda, 1982).

de la ingesta de comida en comparación con las demás fases (proestro, metaestro y diestro) lo que produce una mengua transitoria en el balance energético durante el estro (Dixon et al., 2003).

El hecho de que una gran parte de la investigación animal esté realizada con machos, y que no haya grandes diferencias entre machos y hembras en el desarrollo de ABA podría parecer una debilidad más del modelo, ya que en el trastorno humano la incidencia es 10 veces menor para los hombres. Sin embargo, esta diferencia podría estar relacionada con la menor presión social y experiencia de dietas para perder peso entre hombres (Davy, Benes & Driskell, 2006). Por otra parte, como muestra el estudio de Minnesota, la restricción calórica severa puede crear las condiciones suficientes para que los hombres desarrollen síntomas propios de la anorexia nerviosa (Keys et al., 1950).

Finalmente, y más estrechamente relacionado con el objeto de estudio de nuestro trabajo, en el campo de las experiencias tempranas y la vulnerabilidad al modelo de anorexia basada en la actividad, encontramos el único estudio en el que se estudian los efectos nocivos de la alteración de las experiencias tempranas en este modelo. En concreto, Glavin y Paré (1985) estudiaron los efectos del destete temprano y la susceptibilidad a las úlceras por estrés en las ratas empleando el procedimiento estándar de restricción de alimento y acceso a la rueda de actividad. Estos autores estudiaron 3 grupos de ratas que diferían en el momento del destete: destete a una edad temprana (15 días de edad), destete estándar en estabulario (21 días de edad) y destete tardío (a los 27 días de edad). Los resultados muestran que aquellos animales destetados de forma temprana murieron significativamente antes que los animales destetados de forma estándar o más tardíamente. Además, las ratas que fueron destetadas a los 15 días de edad mostraron unos niveles de actividad diaria mucho más elevada que los animales de los otros dos grupos, y con respecto al desarrollo de úlceras presentaban una mayor superficie gástrica con úlceras.

El estudio de Glavin y Paré (1985) fue una pieza clave para la realización de este proyecto, ya que a pesar de haber sido realizado en la línea de investigación centrada en la producción de úlceras por estrés, muestra que la calidad de las experiencias tempranas deja una profunda huella en el desempeño de los animales bajo las condiciones de restricción de alimentación y acceso a la rueda de actividad, cuyas consecuencias se manifiestan mucho más tarde durante la vida adulta de la rata. Sin embargo, a diferencia del ámbito de la producción de úlceras, las experiencias tempranas y el apego establecido durante la infancia tienen un papel mucho más destacado en la anorexia nerviosa.

Pasamos pues, a revisar este papel del apego en la psicopatología y más específicamente en la anorexia nerviosa, para detenernos en la presentación y examen de la relevancia de un segundo modelo animal que utilizaremos en nuestra investigación, un modelo animal que permite manipular experimentalmente la calidad de la relación madre-cría en las fases más tempranas de la vida de una rata.

## 2. TEORIA del APEGO

La teoría del apego fue concebida como una alternativa al psicoanálisis en la manera de entender por qué los seres humanos tienden a formar vínculos específicos y duraderos con otras personas y por qué las interrupciones y los conflictos en estas relaciones pueden dar lugar a trastornos tanto físicos como mentales. El elemento central de esta teoría es el “vínculo de apego”, que hace referencia a una relación específica que un individuo establece con otro que es considerado más fuerte y sabio, por ejemplo, el vínculo que tiene lugar entre un niño<sup>15</sup> y su madre. Y por “conductas de apego” se entienden todos aquellos comportamientos que fomentan el contacto o la proximidad física con la figura de apego, como pueden ser llorar, sonreír o seguir a la figura de apego. Aunque en un momento dado, las conductas de apego pueden dejar de estar presentes, en cambio, el vínculo de apego perdura de forma relativamente consistente a lo largo del tiempo (Belsky & Cassidy, 1994).

### 2.1. “Bowlby? Give me Barrabas”

La teoría del apego fue originalmente formulada por el psicoanalista británico John Bowlby en el Instituto Tavistock de Londres. Hasta 1958, año en el que Bowlby introduce por vez primera la teoría del apego en el artículo “The nature of the child’s tie to his mother”, las teorías más ampliamente aceptadas para la explicación del vínculo madre-hijo eran de tipo motivacional secundario. Esto significa que desde diferentes perspectivas teóricas, como la teoría psicoanalítica o la teoría de aprendizaje social, se propone que el vínculo madre-hijo surge porque la madre alimenta al hijo, asociándose así, de forma positiva, la satisfacción de necesidades primarias como el hambre con la presencia de la madre (Cassidy, 1999).

---

15. A lo largo del texto se utiliza el género masculino con carácter neutro para referirse indistintamente a niños y niñas o hijos e hijas.

Sin embargo, para Bowlby esta explicación tradicional del vínculo madre-hijo<sup>16</sup> no encajaba con sus observaciones realizadas durante su experiencia clínica con menores institucionalizados, ni con la información que intercambiaba frecuentemente con sus colegas etólogos. Bowlby señala la necesidad de una vinculación primaria con el progenitor, que no deriva de ninguna otra función, y cuya función principal es la protección. Tres fueron los pilares sobre los que se apoyó el planteamiento original de Bowlby para desechar las teorías motivacionales secundarias como posible explicación del establecimiento del apego:

1. Los descubrimientos que hizo Lorenz (1935) acerca de crías de ganso que se apegaban a padres que no los alimentaban.
2. Las observaciones de Harlow (1958) de crías de monos *rhesus* que en situaciones de estrés prefirieron la “madre” cubierta con una manta y que proporcionaba un contacto confortable a la “madre” de rejilla metálica que proporcionaba alimento.
3. Las observaciones de niños que establecían el apego incluso con madres maltratadoras (Bowlby, 1956).

El hecho de que dos de estos tres pilares procedan de la investigación animal pone de relieve una característica definitoria de la labor realizada por Bowlby como son las referencias constantes a estudios animales. Cuando Bowlby comenzó a desarrollar la teoría del apego encontró en la etología el marco que había estado buscando para redefinir el psicoanálisis desde un lenguaje más científico. Para el autor, la etología examina comportamientos análogos a muchos de los que nos interesan clínicamente, y ofrece la posibilidad de contrastar hipótesis que serían incontrastables de ser abordadas

---

16. La teoría del apego se ha centrado tradicionalmente en el estudio de la figura materna (Ainsworth et al., 1978; Bowlby, 1969; George & Solomon, 1999). En humanos, la madre no es la única figura de apego posible, aunque habitualmente sea la figura de apego principal. Sin embargo, en otros mamíferos esta función está íntimamente ligada a la capacidad de amamantar a las crías y, por lo tanto, corresponde única y exclusivamente a las hembras. A lo largo del texto sobre el apego en humanos hemos respetado la utilización del término madre por su larga tradición en la literatura del apego aunque en la mayoría de las ocasiones pueda ser intercambiable por el término cuidador principal.

desde el entramado psicoanalítico (Holmes, 2000). Los planteamientos de Bowlby, basados en la observación directa, y la introducción de terminología propia de la etología, suscitaron un aluvión de críticas en el seno de la *British Psychoanalytic Society*, por haber abandonado las cuestiones más simbólicas del vínculo materno-filial. El encabezamiento de esta sección -“Bowlby? Give me Barrabas”-, expresión empleada por uno de los miembros de esa sociedad, da idea del seísmo que produjo la teoría del apego (Grosskurth, 1987, citado en Bretherton, 2000, p. 56). Sin embargo, a pesar de las burlas de sus compañeros, la obstinación de Bowlby le hizo seguir profundizando en sus planteamientos originales y, hoy por hoy, el impacto de la teoría del apego es tal, que las principales propuestas de Bowlby son aceptadas por un amplio abanico de disciplinas, incluidos el propio psicoanálisis y la etología. Al integrar los planos psicológico y biológico, la obra de Bowlby ha supuesto un gran avance en la comprensión interdisciplinar de la influencia del desarrollo temprano en la salud mental, siendo el modelo de desarrollo dominante en la psicología, el psicoanálisis y la psiquiatría actuales (Schoore, 2001).

Según la teoría del apego planteada por Bowlby (1958, 1969) este vínculo tan estrecho que se establece entre el bebé y el cuidador principal, y que es particularmente evidente cuando se interrumpe, es el resultado de un deseo, de base puramente biológica, de mantener la proximidad con el cuidador. Se trataría pues, de un atributo biológico universal derivado de la historia natural de la humanidad. Desde esta perspectiva evolutiva, la selección genética habría favorecido los comportamientos de apego, como sonreír, llorar o seguir a la madre, porque aseguran la proximidad de un adulto protector, alejando así a posibles depredadores, lo que se traduce en una mayor probabilidad para la prole de sobrevivir y de llegar a edad fértil en la cual reproducirse. Cuando el entorno es favorable, la exploración y el juego se incrementan, mientras que si el entorno se considera peligroso, entonces se activan comportamientos como la búsqueda de proximidad con el cuidador principal a la vez que la exploración y el juego disminuyen. De este modo, la figura de apego representa una base

segura desde la cual el niño puede explorar el entorno sin peligro (Ainsworth, 1963).

Una característica del vínculo de apego es su estabilidad a lo largo de la vida adulta, como expresara Bowlby “Whilst especially evident during early childhood, attachment behaviour is held to characterize human beings from the cradle to the grave” (Bowlby, 1979, p.129). Esta idea de continuidad del apego “desde la cuna hasta la tumba”, se articula en torno a otro concepto fundamental en la teoría del apego como son los denominados *Modelos Internos de Trabajo*. Estos modelos internos de trabajo son representaciones mentales que se van forjando a través de las interacciones repetidas diariamente entre niños y padres durante la infancia. A través de estas interacciones diarias los niños van acumulando conocimiento y expectativas acerca de sí mismos, de las figuras de apego, de los demás y de las relaciones sociales en general, y de esta manera, las representaciones mentales acaban proporcionando esquemas para regular, anticipar e interpretar el comportamiento e intenciones de los demás (Berlin & Cassidy, 1999; Bowlby, 1973; Pietromonaco & Feldman Barret, 2000).

Por tanto, la teoría del apego no sólo es importante por señalar la función protectora inmediata de los vínculos de apego en la infancia, sino por el hecho de plantear que las relaciones cálidas y continuas con el cuidador principal promueven la salud mental, el equilibrio emocional y el bienestar del niño a lo largo de la vida adulta (Bowlby, 1969, 1973, 1979).

## **2.2. Apego y psicopatología**

Hace más de 200 años el médico Philippe Pinel, fundador de la psiquiatría en Francia, solía iniciar sus primeras entrevistas con la siguiente pregunta: “Avez-vous souffert d'une vexation, d'un deuil ou d'un revers de fortune?” (citado en Rutter, 1985). Esta pregunta es una muestra de la sensibilidad que ha existido siempre en el ámbito clínico por los riesgos psiquiátricos asociados



a los reveses inesperados y a las circunstancias adversas en la vida. Tradicionalmente, dentro del conjunto de esas experiencias vitales negativas, las experiencias vividas durante la infancia han recibido una atención especial. El interés por esas experiencias adversas recibió un aldabonazo con la formulación de la teoría del apego de Bowlby que impulsó un estudio más sistemático y en profundidad de las relaciones durante la infancia y el desarrollo de trastornos psicopatológicos en la vida adulta (Greenberg, 1999).

Esta contribución decisiva de la teoría del apego al estudio de la psicopatología puede concentrarse en dos propuestas básicas (Carlson & Sroufe, 1995; Greenberg, 1999):

1. La existencia de trastornos extremos del apego en la infancia, que son una forma temprana de psicopatología en sí mismos.
2. La presunción de que la calidad del vínculo de apego establecido durante la infancia puede amplificar o reducir el riesgo de padecer alguna forma de psicopatología en la vida adulta.

La primera afirmación se basa en la identificación durante los primeros años de vida de patrones atípicos de apego que pueden ser considerados trastornos tempranos o formas incipientes de psicopatología que requieren una intervención incluso en la infancia. Este sería el caso del Trastorno reactivo de la vinculación de la infancia o la niñez<sup>17</sup> (DSM-IV, 2000) en el que se hace referencia a alteraciones marcadas en las relaciones sociales del niño que tienen su inicio antes de los 5 años. Este trastorno se asocia a una crianza claramente patológica que puede adoptar la forma de desatención persistente de las necesidades emocionales básicas del niño relativas a bienestar, estimulación y afecto; la desatención de las necesidades físicas básicas del

---

17. De tipo inhibido: incapacidad persistente para iniciar la mayor parte de las relaciones sociales y responder a ellas de modo adecuado al nivel de desarrollo del sujeto. De tipo desinhibido: sociabilidad indiscriminada o ausencia de selectividad en la elección de las figuras de vinculación.

niño, o cambios repetidos del cuidador primario, lo que impide la formación de vínculos estables.

Sin embargo, es en la conjetura acerca de la existencia de una estrecha relación entre la calidad del vínculo de apego durante la infancia y la psicopatología en la edad adulta donde se ha concentrado gran parte de la investigación dirigida a confirmar los planteamientos de la teoría del apego.

Las observaciones de Bowlby sobre los efectos de la perturbación del vínculo de apego en situaciones extraordinarias, como la hospitalización o la institucionalización, concuerdan con los efectos de otras experiencias adversas excepcionales durante la infancia, como los abusos físicos o sexuales, que han sido asociadas con un incremento del riesgo en adultos de padecer diversas enfermedades (Marmendal, 2005; Meaney, 2001a, 2001b; Phillips, Hammen, Brennan, Najman & Bor, 2005), tanto físicas, como la obesidad, diabetes y trastornos cardiovasculares (Felitti et al., 1998; McCauley et al., 1997) como mentales, ya sean trastornos de ansiedad (Phillips et al., 2005) o depresión (Chapman et al., 2004).

Sin embargo, el estudio de los efectos a largo plazo de las situaciones adversas más excepcionales sólo explicaría un porcentaje mínimo de los trastornos psicopatológicos<sup>18</sup>, lo cual obligaría a buscar dentro de las relaciones más ordinarias, a las que todos estamos más o menos expuestos, qué características o matices del vínculo de apego podrían estar asociadas con la psicopatología adulta. Matices, por ejemplo, como los encontrados por Russek y Schwartz (1997) al observar en un estudio prospectivo que la percepción de los padres como emocionalmente fríos y distantes en jóvenes universitarios incrementaba significativamente el riesgo de padecer enfermedades crónicas como depresión, diabetes, trastornos cardiovasculares y alcoholismo en la

---

18. Aunque tampoco existe una relación necesaria entre experiencias adversas en la infancia y psicopatología en adultos, ya que en muchas ocasiones, las personas logran adaptarse con éxito incluso bajo circunstancias desfavorables. Este fenómeno, conocido como resiliencia, ha captado la atención de clínicos e investigadores y está siendo objeto de numerosos estudios (Glanz & Johnson, 1999; Rutter, 1985).

edad adulta en comparación con aquellas personas que percibían esa relación como más cálida y cercana.

La posibilidad de medir las variaciones individuales en la seguridad del apego<sup>19</sup> derivada del trabajo realizado por Mary Salter Ainsworth supuso el impulso definitivo para el estudio de esta relación entre estilos de apego y psicopatología.

### **2.2.1. Ainsworth y los estilos de apego**

Mary Salter Ainsworth, miembro del equipo de Bowlby, fue pionera en los estudios de observación de las interacciones madre-hijo y creó una herramienta para la evaluación del apego durante la infancia, la *Situación Extraña*, a partir de la cual desarrolló la primera categorización de los diferentes tipos de apego que se pueden establecer en las relaciones ordinarias entre madre e hijo (Ainsworth, 1963; Ainsworth, Blehar, Waters & Wall, 1978). Durante este procedimiento observacional estandarizado, los niños se enfrentan a 8 situaciones estresantes que incluyen la presencia de un extraño, la separación del cuidador principal y la reunión. En base a las reacciones de los niños ante estas separaciones y reuniones con la figura materna Ainsworth et al. (1978) identificaron tres estilos básicos de apego: uno seguro y dos inseguros (véase Tabla 2).

Con posterioridad, se describió una cuarta categoría de apego para incluir a aquellos sujetos inseguros que no presentaban un estilo de apego coherente según la clasificación de Ainsworth. Este tercer estilo de apego inseguro denominado "A/C" (Crittenden, 1985) o "desorganizado" ("D") (Main, Kaplan & Cassidy, 1985) caracterizaría al 15-20% de la población normativa. Estos niños muestran comportamientos desorganizados y contradictorios, como llorar

---

19. Según Ainsworth los mayores determinantes de las variaciones en el tipo de apego son el cuidado materno, especialmente la sensibilidad ante las necesidades del niño, y el propio temperamento del niño (Ainsworth et al., 1978; Belsky & Cassidy, 1994).

durante la separación y apartarse de la figura principal de apego durante la reunión.

Apego seguro (B)	Los niños clasificados de apego seguro exploran libremente en presencia de la figura de apego, protestan ante su partida y la buscan de forma activa. Son fácilmente reconfortados en cuanto ella vuelve. En general, las madres de los niños de apego seguro son sensibles a las señales de sus hijos. 55-65% de la población normativa.
Apego inseguro-ambivalente o resistente (C)	Los niños clasificados de apego resistente protestan de forma violenta y lloran mucho ante la separación materna, sin embargo se resisten a ser consolados cuando la madre regresa. Se frustran con facilidad y muestran ansiedad difusa incluso en presencia de la madre. Las madres de estos niños suelen responder de forma inconsistente a las señales de sus hijos, siendo a veces inaccesibles y poco disponibles y otras veces intrusivas y excesivamente afectuosas. 10-15% de la población normativa.
Apego inseguro-avoidante (A)	Los niños clasificados de apego evitativo muestran poca angustia ante la separación materna, y no buscan el contacto después de la reunión, sino que dirigen su atención a los juguetes, como para desviar la atención del deseo de establecer contacto con la figura de apego. Se muestran aparentemente desapegados de sus madres y muestran aversión al contacto visual. Las madres de los niños de apego evitativo oscilan desde emocionalmente frías hasta el rechazo más abierto. Tienden a rechazar los intentos de proximidad de sus hijos, especialmente si se trata de contacto corporal. 20-25% de la población normativa.

*Tabla 2. Clasificación de los estilos de apego según Ainsworth (1978).*

En general, el apego seguro durante la infancia se caracteriza por fomentar la confianza en sí mismo, la autoestima y la habilidad para adaptar el comportamiento de forma eficaz a las diferentes situaciones a lo largo de la vida adulta. Mientras que los niños que se apegan de forma insegura, una vez adultos, muestran menos confianza en sí mismos y son más propensos a las dificultades interpersonales, y a los problemas relacionados con la ansiedad y el estrés (Belsky & Cassidy, 1994).

A partir de estas características generales, es fácil imaginarse por ejemplo, quién va a tener una mayor probabilidad de desarrollar síntomas ante la pérdida de un ser querido, o al tener que afrontar algún otro evento vital estresante. Evidentemente, aquellas personas con apego inseguro y que por lo

tanto no confían en sí mismas, no se sienten capaces de afrontar las dificultades de la vida y piensan que nadie los puede ayudar, poseen características que, al menos teóricamente, suponen un terreno abonado para la aparición de síntomas.

En línea con lo anterior, los diferentes estilos de apego inseguro (ambivalente, evitativo y desorganizado<sup>20</sup>) han sido relacionados con un amplio rango de trastornos que abarcan desde la ansiedad (Cassidy & Berlin, 1994; Zeijlmans van Emmichoven, van IJzendoorn, de Ruiter & Brosschot, 2003), la depresión (Roberts, Gotlib & Kassel, 1996; Sund & Wichstrøm, 2002), los trastornos de la conducta en la adolescencia (Greenberg & Speltz, 1988), la conducta suicida (Adam, Sheldon-Keller & West, 1996), el abuso de sustancias y la delincuencia (Allen, Hauser & Borman-Spurrel, 1996), a los trastornos de la personalidad en la vida adulta (Fonagy et al., 1996; Nickell, Waudby & Trull, 2002; Skodol et al., 2002) y los trastornos de la conducta alimentaria (O’Kearney, 1996; Ward, Ramsay, Turnbull, Benedittini & Treasure, 2000).

### **2.2.2. La anorexia nerviosa y la teoría del apego**

La anorexia nerviosa, como un caso específico de los trastornos de la alimentación, no se ha sustraído al escrutinio de la lente del apego (Ward et al., 2000). Partiendo de que el vínculo de apego es un principio organizador de la experiencia de sí mismo y de los demás, varios autores han planteado que algunas áreas deficitarias en la anorexia nerviosa, tales como las dificultades en las habilidades sociales, el afrontamiento del estrés, la ambivalencia afectiva y los problemas de autonomía, podrían ser consecuencia de un vínculo de apego inseguro que, a su vez, podría haber estado jugando un papel en el desarrollo y mantenimiento del trastorno (Armstrong & Roth, 1989; Broberg, Hjalmsers & Nevonon, 2001; Chassler, 1997; O’Kearney, 1996; Ramacciotti et

---

20. De entre los diferentes estilos de apego inseguro establecidos durante la infancia, parece que la categoría de apego desorganizado es la que recoge mejor la “inseguridad más patológica”, esto es, que ha sido vinculado más estrechamente con algún tipo de psicopatología (Rutter & O’Connor, 1999).

al., 2001; Salzman, 1997; Sharpe et al., 1998; Troisi et al., 2006; Troisi, Massaroni & Cuzzolaro, 2005).

Por ejemplo, el hecho de que el inicio de la anorexia nerviosa tenga lugar en la adolescencia y esté habitualmente precedido por un evento vital estresante que con frecuencia implica la interrupción de las relaciones sociales del individuo con sus familiares y amigos (Bruch, 1978; Schmidt, Tiller, Andrews, Blanchard & Treasure, 1997) da pie a que algunos autores identifiquen el apego inseguro –caracterizado por problemas de autonomía y dependencia, miedo al abandono y ansiedad de separación– como factor a tener en cuenta en el desarrollo de la anorexia nerviosa (Armstrong & Roth, 1989; Broberg et al., 2001; Smolak & Levine, 1993).

Para otros autores el apego inseguro sería la causa de la baja autoestima, la incompetencia interpersonal y la inseguridad típicas de estas pacientes, de las que se nutren la insatisfacción corporal y la preocupación por el peso, que a su vez conducen a prácticas de riesgo como la dieta, los vómitos o el ejercicio excesivo (Sharpe et al., 1998; Troisi et al., 2006).

Sin embargo, la asociación detectada hasta el momento entre apego inseguro y anorexia nerviosa reproduce el mismo patrón que relaciona apego inseguro y psicopatología en general; es decir, se trata de una moderada asociación inespecífica. Incluso, aunque algunos autores han señalado la posibilidad de que el abuso sexual infantil pueda ser un factor de riesgo relevante para el desarrollo de la anorexia nerviosa (Wooley, 1994), esta relación no ha sido constatada en otros estudios (Connors & Morse, 1993; Gillberg & Rastam, 1998; Schmidt, Humfress & Treasure, 1997) y suele encontrarse más asociada a la bulimia nerviosa (Root & Fallon, 1988; Waller, 1992). Aún mas, una revisión de la literatura sobre la relación entre abuso sexual infantil y los trastornos de la alimentación precisó que la incidencia de abusos sexuales en las mujeres diagnosticadas de trastorno de la alimentación

está en torno a un 30% lo cual supone una tasa de ocurrencia muy similar a la de la población femenina en general (Connors & Morse (1993).

La ausencia de una mayor especificidad en la relación entre alguna de las diferentes categorías de apego inseguro (resistente, evitativo y desorganizado) y la anorexia nerviosa puede deberse a las características idiosincrásicas del trastorno. Así, una primera dificultad para encontrar una relación más definida estaría relacionada con la propia inestabilidad del diagnóstico, debida a la migración de las pacientes con anorexia nerviosa hacia otros trastornos del espectro de los trastornos de la alimentación. De esta manera, una misma paciente podría ser clasificada en categorías diagnósticas diferentes dependiendo de su propia evolución (por ejemplo, de anorexia a bulimia). Además, esta migración está relacionada con la edad de comienzo y con la apreciable cronicidad de la anorexia nerviosa, lo que provoca una gran heterogeneidad en las muestras de pacientes sobre todo con respecto a la cronicidad que en un estudio reciente llega a oscilar desde cero hasta 22 años (Troisi et al., 2005).

También existen dificultades para componer grupos homogéneos debidas a la baja incidencia de la anorexia nerviosa, lo que obstaculiza el agrupamiento de las pacientes por subcategorías diagnósticas. Así, mientras que en algunos estudios el diagnóstico de anorexia nerviosa es una categoría única (Broberg et al., 2001; Chassler, 1997) en otros estudios con un mejor reclutamiento de pacientes se distingue entre los subtipos restrictivo y purgativo (Smolak & Levine, 1993; Ramacciotti et al., 2001; Troisi et al., 2005, 2006). Otro aspecto relacionado con esta baja incidencia del trastorno tiene que ver con las diferencias en la laxitud y el rigor que se exige en los diferentes estudios con respecto al cumplimiento de cada uno de los criterios diagnósticos. Dependiendo de la mayor o menor flexibilidad ante el cumplimiento de un requisito particular (amenorrea, IMC, etc.) pacientes con características similares podrían ser reclutadas dentro de diferentes grupos diagnósticos

(como caso de anorexia nerviosa en un estudio, o como caso dentro de la categoría de trastorno de la conducta alimentaria no especificado en otro).

Relacionado con este aspecto de la identificación de una paciente como “caso”, estaría la definición del criterio de pérdida de peso para el diagnóstico de anorexia nerviosa que depende del sistema de diagnóstico utilizado (ICD-10 vs. DSM-IV), o la propia re-definición de este criterio dentro de los diferentes DSM. Así, mientras que el criterio de pérdida de peso en los diferentes DSM se establece con respecto al peso normativo ideal, esta referencia ha pasado desde el estricto 25% de pérdida de peso en el DSM-III (APA, 1980) al 15% en los siguientes DSM-III-R, DSM-IV, y DSM-IV-TR (APA, 1987, 1994, 2000). Por otra parte, la definición de este criterio para la ICD-10 (OMS, 1992) es doble ya que requiere estar un 15% por debajo del peso esperado (adoptado ya desde el DSM-III-R), o bien en términos de un IMC  $\leq 17.5$ .

### **2.2.3. Apego y psicopatología: “el apego inseguro no es bueno para su salud”**

Llegados a este punto, la conclusión con respecto a la relación entre apego y psicopatología podría enunciarse (parafraseando la conclusión de una revisión exhaustiva sobre los hábitos higiénico-dietéticos y la salud física que afirmaba que fumar no es bueno para la salud) afirmando que el apego inseguro no es bueno para su salud mental y física. Esta afirmación también encierra un significado añadido como es que hacer muchas más precisiones al respecto es aventurado ya que los datos existentes son más conservadores que las hipótesis que los generan.

Por una parte, la ausencia de una relación sistemática entre los subtipos de apego inseguro (resistente, evitativo o desorganizado) con algún trastorno en concreto, deja como resultado una relación inespecífica entre el apego inseguro y la psicopatología en general. Por tanto, el apego inseguro estaría contribuyendo al desarrollo de un trastorno de forma indirecta e inespecífica,



amplificando alguna vulnerabilidad -por ejemplo, genética- ya existente. Desde esta perspectiva, las consecuencias a largo plazo de un apego inseguro en la infancia se manifestarían mediante la falta de habilidades en tres dominios: la respuesta al estrés, la utilización inadecuada de reguladores externos del afecto y los déficits en el recurso y el empleo de factores protectores (Mauder & Hunt, 2001).

En cuanto al primer factor -la respuesta de estrés- el apego inseguro podría estar incrementando el nivel de estrés percibido por el sujeto, o bien podría afectar a la intensidad y/o duración de la respuesta fisiológica de estrés, a la vez que reduce la eficacia del apoyo social como elemento amortiguador del estrés. En segundo lugar, debido a la asociación del apego inseguro con déficits en la regulación interna del afecto, la inseguridad conduce a un mayor uso de estrategias para regular el afecto disfórico que a su vez pueden ser factores de riesgo para la enfermedad, bien por el abuso de sustancias, o bien por la restricción de alimentos o los vómitos entre otros. Finalmente, el apego inseguro puede afectar negativamente a la adherencia al tratamiento, e incluso alterar la cantidad y gravedad de los síntomas manifestados, como es tan habitual en los trastornos de la alimentación.

Por otra parte, una explicación alternativa a la ausencia de especificidad detectada entre apego inseguro y psicopatología podría estar relacionada con algunas dificultades metodológicas recurrentes en la literatura del apego. Al margen de los escasos estudios longitudinales prospectivos, la investigación sobre la relación apego-psicopatología se centra bien en los recuerdos que las personas adultas guardan de la relación con las figuras de apego en la infancia, o bien en informes sobre la naturaleza del apego en las relaciones adultas actuales. En el primer caso, la asociación entre apego inseguro y psicopatología se basa en la memoria retrospectiva de los sujetos. A este respecto, en una revisión actual sobre las experiencias infantiles adversas Hardt y Rutter (2004) concluyen que la memoria retrospectiva de los adultos en este ámbito puede ser lo suficientemente válida, a pesar de la existencia inevitable de sesgos tales como falsas memorias o amnesias infantiles. Sin

embargo, para aquellos aspectos de las relaciones interpersonales y de la vida familiar más sutiles la memoria retrospectiva es mucho menos satisfactoria, lo que entorpecería un informe fiable del estilo de apego establecido durante los primeros años de vida.

Por otra parte, la evaluación del apego actual en los adultos<sup>21</sup> trata de resolver los problemas debidos a las falsas memorias y las lagunas de los estudios retrospectivos. La evaluación del apego adulto se asienta sobre la idea de la continuidad y de estabilidad del estilo de apego a lo largo del ciclo vital, que a su vez se sustenta sobre el concepto de los Modelos Internos de Trabajo. Sin embargo, esta alternativa a los estudios retrospectivos crea tantos o más problemas de los que resuelve a la hora de interpretar una asociación detectada entre un determinado trastorno y el apego actual. La evaluación simultánea del apego y psicopatología en una muestra determinada no permite inferir sobre la dirección de la influencia en la asociación detectada, esto es, inferir de la coincidencia de dos fenómenos (apego actual inseguro y psicopatología) la consecuencia de uno –la psicopatología- a partir del otro.- el apego inseguro-. Así, por ejemplo, a pesar de que el informe sobre apego adulto inseguro sea más frecuente en una muestra de pacientes con anorexia nerviosa en comparación con un grupo de control libre del trastorno (Troisi et al., 2005), esto no aclara en absoluto si el apego inseguro es causa o efecto de la anorexia. La evaluación del apego adulto no permite descartar que el propio informe sobre el apego esté sesgado por las dificultades contemporáneas, en cuyo caso el estilo de apego adulto sería una reacción ante los problemas actuales<sup>22</sup> (Mauder & Hunter, 2001).

---

21. Las relaciones de apego en la vida adulta se diferencian de otras relaciones porque proporcionan sentimientos de seguridad y pertenencia y en su ausencia aparecen sentimientos de soledad y desasosiego. Las conductas de apego son similares a las de la infancia: búsqueda de proximidad con la figura de apego en situaciones de estrés, sensación de seguridad en su presencia y de ansiedad cuando está inaccesible. La principal diferencia con el apego infantil estriba en que el sistema de apego adulto es recíproco (Crowell, Fraley & Shaver, 1999).

22. En esta misma línea, Waters, Weinfield & Hamilton (2000) observan que bajo circunstancias adversas, tales como una enfermedad, se pueden producir cambios en la evaluación subjetiva del apego adulto.

Por tanto, el estado de la cuestión con respecto a la relación entre apego y psicopatología, y más en concreto anorexia nerviosa, nos deja frente a una relación inespecífica que es común a muchos otros trastornos psicopatológicos. Además, debido a los problemas metodológicos apuntados con respecto a la investigación mediante autoinformes, la relación entre apego y anorexia nerviosa en humanos parece que se encuentra en un callejón sin salida.

Llegados a este punto, es necesario detenerse y volver la mirada hacia los estudios realizados en el ámbito animal directamente relacionados con el tema del apego. Como veremos, en contra de lo que cabría esperar dada la presunta naturaleza simbólica del vínculo de apego, la investigación animal ha resultado esencial a la hora de desvelar la existencia de una extensa capa de procesos biológicos que subyacen a los constructos psicológicos y comportamentales de la teoría del apego. Estos estudios con animales han llegado incluso a transformar la concepción original del apego propuesta por Bowlby hacia un enfoque más psicobiológico del vínculo.

Uno de los primeros ámbitos en beneficiarse de los estudios animales fue el estudio de la respuesta de separación materna que abordaremos a continuación.

### **2.3. Respuesta de separación materna**

Una de las contribuciones más significativas de John Bowlby fue la definición de las fases de la respuesta de separación materna a partir de los comportamientos observados en los niños cuando son separados de su madre. James Robertson y John Bowlby (1952) estudiaron, mediante observación directa, las reacciones de niños que tuvieron que ser ingresados en el hospital donde permanecieron algunos días en ausencia de cualquier tipo de contacto con sus padres por peligro de infección. Bajo estas condiciones, los autores describieron tres fases por las que fueron pasando los niños de forma consecutiva: las fases de protesta, de desesperanza y de desapego. Esta

secuencia de agitación seguida de depresión también se observa en la respuesta de los niños que son separados de sus madres en circunstancias menos extremas.

Las dos primeras fases (protesta y desesperanza) corresponden concretamente al período de separación, mientras que la tercera (desapego) pertenece al momento de reunión con la madre. La fase de protesta comienza en cuanto la madre se aleja del niño y puede durar horas e incluso días. Durante esta fase inicial de la separación, el niño procura recuperar a su madre ejercitando plenamente sus recursos, lo que se caracteriza por un llanto fuerte, gritos y muestras de angustia y ansiedad ante cualquier indicio que pueda significar la vuelta de su madre a la vez que suele rechazar a toda figura sustituta que le ofrezca ayuda. Después de esta primera fase de agitación, la conducta del niño sugiere que está perdiendo la esperanza de que la madre vuelva: los movimientos físicos disminuyen, el llanto se vuelve intermitente o desaparece y aumenta una actitud de indefensión, de impotencia. El niño se encuentra en la fase de desesperanza, caracterizada por una gran pasividad por parte del sujeto. Finalmente, la fase de desapego tiene lugar cuando el niño se reúne con su madre. Durante esta última fase el niño se mantiene distante y apático, como si hubiese perdido todo el interés en su madre.

Además de las manifestaciones descritas a nivel comportamental, existen correlatos fisiológicos específicos de esas fases con cambios en diferentes parámetros como la temperatura corporal, la frecuencia cardiaca (Field & Reite, 1984; Hollenbeck et al., 1978), la alteración de los ciclos de sueño (Field & Reite, 1984), e incluso con alteraciones endocrinas que afectan a los niveles de cortisol (Tennes & Mason, 1982) y a la secreción de la hormona de crecimiento (Powell, Brasel & Blizzard, 1967; Powell, Brasel, Raiti & Blizzard, 1967).

Curiosamente estas mismas alteraciones fisiológicas se encuentran en jóvenes primates no humanos durante la separación materna, lo cual confirma la existencia de perfiles de activación fisiológica diferenciados correspondientes

a las fases de protesta y desesperanza (Amini et al., 1996; Field, 1985; Hofer, 1982, 1984, 1987, 2000; Reite & Capitanio, 1985; Reite, Short, Kaufman, Stynes & Pauley, 1978).

Así pues, las observaciones preliminares de la conducta de niños separados realizadas por Bowlby (Bowlby, 1969; Robertson & Bowlby, 1952) o Spitz (1945) no son únicas y exclusivas del ser humano, sino que en otros mamíferos sociales, la separación de la figura materna también va sistemáticamente seguida de un paquete similar de respuestas comportamentales. Más aún, esta correspondencia no se limita al plano conductual, sino que parece implicar la alteración de los mismos parámetros fisiológicos y del sistema endocrino (véase Tabla 3).

Sin embargo, la auténtica revolución en la comprensión de la respuesta de separación no se ha producido por la descripción de esos cambios comportamentales y fisiológicos tanto en primates humanos y no humanos (lo cual puede parecer bastante lógico dada la proximidad en la escala evolutiva), sino que esos mismos procesos se observan en ratas. La constatación de la respuesta de separación en animales aparentemente tan alejados del ser humano como las ratas supuso un desafío a la presunción de la necesidad de capacidades cognitivas y emocionales superiores para el establecimiento del vínculo de apego. De ahí la incredulidad del propio Hofer cuando comprobó por primera vez la existencia de este tipo de vínculo en roedores: "In 1968 I could not imagine that the kind of attachment Bowlby described might take place in a relatively 'primitive' species, such as the laboratory rat" (Hofer, 1994, p. 10).

	Respuesta comportamental	Respuesta fisiológica
Fase de protesta	-Agitación motora -Exploración y búsqueda -Vocalizaciones repetitivas	-Frecuencia cardiaca incrementada -Temperatura corporal incrementada -Cortisol en suero y niveles de enzimas adrenales para la síntesis de catecolaminas elevados
Fase de desesperanza	-Actividad motora reducida -Vocalización reducida -Socialización disminuida -Expresión facial triste -Consumo de agua y comida variable o reducido	-Frecuencia cardiaca disminuida -Temperatura corporal reducida -Alteraciones del sueño; disminución del sueño REM -Niveles de hormona de crecimiento reducidos -Inmunidad celular alterada

Tabla 3. Cambios comportamentales y fisiológicos que se producen en mamíferos sociales durante las fases de protesta y desesperanza de la separación materna (revisado en Amini et al., 1996).

### 2.3.1. De la complejidad a la simplicidad: los reguladores ocultos

Hace 40 años era absurdo pretender estudiar la respuesta de separación en crías de rata ya que se suponía que para el desarrollo del vínculo de apego con la madre era imprescindible la participación de ciertas capacidades emocionales y cognitivo-simbólicas. Según este planteamiento mentalista, la respuesta de separación se concebía como un todo coordinado, una respuesta que de alguna manera exigía cierto tipo de conciencia o percatación de que la madre estaba ausente. Nada mejor para ilustrar la magnitud del reto que suponía investigar el apego en ratas por aquel entonces que mencionar de nuevo al propio Hofer (2000):

When I began research in the late 1960s, I thought it unlikely that rat pups would show much response to maternal separation. Monkey perhaps, but not rats. After all, the separation response, I thought, depends on the ability of the infant to conceive of an object as

something that exists independent of itself. Furthermore, were rat pups capable of the complex emotions thought to be required for the formation of attachment bonds and necessary for a response to their rupture? More basic still, how could we even imagine that an infant rat knows its mother is gone? These are still good questions, but looking back, I realize how little we then knew about the capabilities of very young mammals. Twenty-five years ago even human newborns were thought to be simple bundles of primitive reflexes. (p. 204)

Myron A. Hofer, Profesor del Departamento de Psiquiatría del Columbia University College of Physicians and Surgeons de Nueva York, desarrolló toda una línea de trabajo en torno a las consecuencias que acarrea la separación de una cría de rata de su madre. Esta línea de investigación ha permitido la identificación de los mecanismos biológicos que subyacen a las interacciones madre/cría y ha contribuido al desarrollo de una perspectiva más neurofisiológica del apego.

Como en tantas otras ocasiones en investigación, el azar puso a Hofer sobre la pista que seguiría durante el resto de su vida como investigador, y que le convirtió en una figura de referencia en el ámbito de la separación materna. El interés de Hofer por la respuesta de las crías de rata a la separación materna surgió a raíz de una observación accidental en el laboratorio cuando una noche, una rata se escapó de la caja hogar dejando a las crías solas durante varias horas. Según manifiesta Hofer (2000), al llegar al laboratorio al día siguiente observó unos cambios fisiológicos y comportamentales en las crías (se movían muy despacio, su temperatura corporal estaba 2 ó 3 grados por debajo de lo normal y su frecuencia cardiaca también había disminuido) que le recordaron mucho a la fase de desesperanza de la respuesta de separación tan bien descrita en humanos por Bowlby (1973) y en monos por Kaufman y Rosenblum (1967) y por Seay y Harlow (1965)<sup>23</sup>.

---

23. En cambio, la fase de protesta tardó un poco más en ser descubierta, ya que los gritos/llanto de las crías, una de las respuestas más prominentes de esta fase, son imperceptibles para el oído humano ya que se trata de vocalizaciones ultrasónicas (Hofer & Shair, 1978).

Pero, ¿cómo puede saber una cría de rata recién nacida que su madre no está? En un primer momento, Hofer (2000) pensó que la ausencia del calor materno había provocado el descenso en la temperatura corporal de las crías, lo que a su vez había provocado los cambios en la frecuencia cardíaca y en el comportamiento. Sin embargo, al indagar el efecto que tenía suministrar calor artificial a las crías para que pudiesen así mantener su temperatura corporal, esta primera hipótesis se demostró errónea. Hofer encontró que las crías pasaban de la depresión a la hiperactividad pero que la frecuencia cardíaca no variaba. Por lo tanto, ¿cuál era el aspecto de la interacción madre-cría responsable de mantener la frecuencia cardíaca en las crías?

Los trabajos posteriores realizados por Hofer (1982, 1984, 1987, 1996) han ido revelando, por una parte, que la frecuencia cardíaca normal de la cría se mantiene mediante la alimentación, a través de la interacción de la leche con receptores gastrointestinales. Sin embargo, es la ritmicidad de los patrones de alimentación, y no la alimentación en sí misma, la responsable de la regulación del ciclo sueño-vigilia. Por otra parte, los niveles de actividad motora en las crías se encuentran regulados a través del calor y la estimulación táctil proporcionados por la madre. La estimulación táctil también parece ser responsable de la regulación de la hormona del crecimiento así como de algunas enzimas necesarias para el crecimiento. De esta manera, la ausencia de ciertos estímulos proporcionados por la madre de forma simultánea, pero independientemente entre sí, parece elicitar lo que se conoce como la respuesta de separación.

Durante la separación materna, todos los estímulos reguladores maternos se pierden a la vez, dando lugar a un patrón complejo donde se incrementan los niveles de algunas funciones y descienden otros, creando la típica forma de respuesta de separación (Hofer, 2002). Sin embargo, el hecho de que los diferentes sistemas de las crías respondan de forma simultánea no significa que la respuesta de separación sea resultado de un mecanismo común y único (Hofer, 1982). Las crías tienen una serie de sistemas que responden de forma



relativamente independiente a los diversos estímulos reguladores de la madre, y durante la separación cada uno de estos sistemas individuales de la cría responde a la ausencia de uno u otro elemento regulador previamente establecido en la interacción con la madre, tal como se detalla en la Tabla 4 (Hofer, 1982, 1987; Hofer & Sullivan, 2001).

Sistemas de la cría	Dirección	Reguladores maternos
<i>Comportamentales</i>		
-Nivel de actividad	Incrementado	Calor corporal
	Disminuido	Táctiles y olfatorios
-Mamar	Disminuido	Leche (distensión)
		Estimulación táctil
<i>Neuroquímicos</i>		
-NE, DA	Incrementado	Calor corporal
-OCD	Incrementado	Estimulación táctil
<i>Metabólicos</i>		
-Consumo oxígeno	Incrementado	Leche (azúcar)
<i>Ciclos sueño-vigilia</i>		
-Sueño REM	Incrementado	Periodicidad, leche y estimulación táctil
-Activación	Disminuido	táctil
<i>Cardiovasculares</i>		
-Frecuencia cardíaca	Incrementada	Leche, receptores
-Resistencia	Disminuida	gastrointestinales
<i>Endocrino</i>		
-Hormona crecimiento	Incrementada	Estimulación táctil

Tabla 4. Reguladores ocultos dentro de las interacciones madre-cría en ratas (tomado de Hofer, 1987). Nota: NE = norepinefrina; DA = dopamina; OCD = ornitina decarboxilasa.

La cuidadosa disección de la fisiología del apego en las ratas realizada por Myron Hofer ha contribuido sustancialmente a una perspectiva neurofisiológica más amplia del apego. Los estudios que Hofer ha ido realizando a lo largo de los años demostraron que una extensa capa de

procesos biológicos subyace a los constructos conductuales y psicológicos de la teoría del apego. Ocultos dentro de las interacciones madre-cría se encuentran múltiples eventos sensoriomotores, termal-metabólicos y nutritivos que tienen un inesperado efecto regulador en los sistemas conductuales y fisiológicos de la cría. Con la palabra “regulador” Hofer quiere expresar la idea de que sistemas individuales de la cría son controlados en su nivel, frecuencia o ritmo por componentes particulares de la interacción social con la madre (Hofer, 2000). Y la pérdida, durante la separación materna, de estos reguladores ocultos es lo que da lugar a lo que conocemos como fases de protesta y desesperación de la respuesta de separación (Polan & Hofer, 1999).

El trabajo de Hofer contribuyó al abandono de la respuesta de separación como una respuesta psicofisiológica unitaria y a la transformación del concepto de apego originalmente propuesto por Bowlby. Según esta nueva perspectiva, la relación de apego es el elemento regulador fundamental de la neurofisiología básica de los mamíferos sociales (Amini et al., 1996). En los mamíferos sociales, el sistema nervioso está formado por circuitos homeostáticos abiertos que requieren la estimulación externa procedente de otro mamífero social para mantener la homeostasis interna (Field, 1985; Hofer, 1984; Reite & Capitano, 1985; Kraemer, 1992). De este modo, la respuesta de un mamífero social a la separación va a estar determinada por su capacidad de mantener la homeostasis neurofisiológica del organismo de forma independiente. Durante la infancia, esta capacidad de autorregulación es mínima y su desarrollo está íntimamente ligado a la presencia de una figura de apego que le proporcione la regulación adecuada. Para Kraemer (1992) el sistema de apego es el sistema organizador central del cerebro de los mamíferos sociales superiores. En consecuencia, si el sistema de apego se ve alterado durante el desarrollo temprano por la ausencia de figuras de apego, las funciones básicas del organismo como la alimentación, la agresividad, las relaciones sexuales y la crianza podrían estar conservados en parte, pero llevarse a cabo de forma disfuncional.

## **2.4. Apego, psique o soma? Conducta materna y transmisión intergeneracional**

Uno de los principales determinantes del estilo de apego en humanos es la sensibilidad de la madre a las señales del niño. Por ejemplo, un niño cuya madre suele responder de forma inconsistente a sus necesidades, siendo distante e inaccesible por momentos o intrusiva y excesivamente afectuosa en otros, acaba desarrollando unas representaciones mentales de sí mismo y de los demás de tipo inseguro. Según la teoría del apego, tal como se ha mencionado anteriormente, estos modelos internos de trabajo acompañan a la persona a lo largo de la vida convirtiéndola en más o menos vulnerable al estrés y al desarrollo de síntomas, y además, se transmiten de padres a hijos a través de la comunicación verbal y no verbal.

Sin embargo, como acabamos de comprobar al revisar el trabajo de Hofer, y como vuelve a reiterar el propio autor en una publicación reciente acerca de la formación del vínculo de apego y de la respuesta de separación materna, existen explicaciones alternativas que proceden de estudios realizados con roedores, y que se alejan bastante de la supuesta necesidad de un procesamiento mental y emocional complejo de la figura de apego (Hofer, 2000, 2006). En esta misma línea, a continuación se abordarán otros dos elementos de la teoría del apego, que supuestamente también requieren de las representaciones mentales para su generación y mantenimiento y que se han beneficiado ampliamente de los estudios realizados con roedores, como son los diferentes estilos de apego y la vulnerabilidad al estrés, y su transmisión intergeneracional.

### **2.4.1. Variaciones en la conducta materna y vulnerabilidad al estrés**

La cría de rata recién nacida, al igual que los bebés humanos, es totalmente dependiente del cuidado materno para su supervivencia.

Normalmente, las crías pasan la primera semana de vida en el nido con el resto de la camada, y durante este periodo son incapaces de regular su temperatura corporal, tampoco son capaces de orinar o defecar por sí solas y no pueden ver ni oír<sup>24</sup>. Durante los dos primeros días la madre amamanta a las crías casi sin interrupción, y de forma progresiva, se va ausentando del nido durante periodos de tiempo que se van haciendo cada vez más largos. Hacia mediados de la segunda semana, las crías pueden oír, abren los ojos, muestran una mayor actividad locomotora y ya son capaces de termorregular y de evacuar por sí mismas. En el momento del destete, que habitualmente tiene lugar entre los días 20-25 de vida, las crías son completamente autónomas (Ader & Grotta, 1970; Calhoun, 1962; Kuhn & Schanberg, 1998).

Meaney y sus colaboradores (Caldji, Diorio & Meaney, 2000; Meaney, 2001a) examinaron las variaciones naturales que tienen lugar dentro de la conducta materna de las ratas durante los primeros 8 días después del nacimiento. Estos autores encontraron que había dos tipos de conducta materna que permitían diferenciar a unas madres de otras: por una parte, la conducta de lamer/acicalar a las crías, que incluye todo el cuerpo de la cría y especialmente la zona anogenital, y por otra parte, la postura de amamantamiento de lomo arqueado. Esta postura de amamantamiento se caracteriza por una madre con el lomo notablemente arqueado y las patas extendidas hacia el exterior, lo que permite una conducta materna activa (lamer y acicalar) a la vez que se produce el amamantamiento de las crías. Ésta no es la única postura de amamantamiento posible, la madre también puede estar tumbada encima de las crías (“tipo manta”) o de costado, ambas posturas más relajadas y pasivas que la de lomo arqueado. La frecuencia de

---

24. Los procesos de desarrollo neuronal de la corteza cerebral de los roedores y el hombre son similares en términos neurobiológicos aunque difieren en su curso temporal (Preuss, 2000). Aunque no existe una fórmula exacta de equivalencia, ya que como señala Quinn (2005) la correspondencia entre la vida de la rata y la de un humano típico depende del factor que se quiera analizar. Por ejemplo, el factor de correspondencia es de 13.8 días de la rata por 1 año humano si nos referimos a la expectativa de vida (3 años en la rata vs. 80 años en humanos), pero este factor de conversión puede ser mayor (42.4 días/ratas por 1 año/humano) si nos referimos al periodo de lactancia, o menor (4.3 días/rata por 1 año/humano) si nos referimos a la pubertad. De cualquier manera basta que estos animales sufran una privación materna de unos pocos días para que constituya una manipulación de tipo crónica (Pascual, 2002).

lametazos/acicalamiento (LG<sup>25</sup>) está altamente correlacionada con la postura de lomo arqueado (ABN<sup>26</sup>), de modo que se puede clasificar a las madres como altas o bajas en función de su conducta materna LG-ABN. A este respecto, es interesante señalar que las madres altas y bajas en LG-ABN no difieren en la cantidad de tiempo que están en contacto con las crías, por tanto, las diferencias en la frecuencia de LG o ABN no se deben simplemente a la cantidad de tiempo que pasan en contacto con las crías, sino que afectan más bien a la calidad de la relación. Tampoco se ha encontrado relación entre la frecuencia de LG o ABN con el tamaño o la composición de género de las camadas (Meaney, 2001a).

Uno de los aspectos más relevantes de la clasificación de las madres en función del criterio LG-ABN tiene que ver con las consecuencias que esta conducta materna tiene sobre la respuesta de estrés de las crías en su vida adulta. Una vez adultas, aquellas crías que tuvieron madres altas en LG-ABN muestran una respuesta de estrés reducida en comparación con las crías de madres bajas en LG-ABN, y esto se ve reflejado tanto a nivel neuroendocrino como conductual.

Si prestamos atención a los parámetros neuroendocrinos, se observa que a mayor frecuencia de LG-ABN durante la infancia menor es la respuesta del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) al estrés. El eje HPA es el sistema responsable de la respuesta de estrés, y, como su propio nombre indica, implica principalmente al hipotálamo, la glándula pituitaria y las glándulas adrenales, tal como se muestra en la Figura 4.

Ante un estímulo estresante se desencadena una cascada de reacciones que tiene su inicio con la segregación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), oxitocina y arginina vasopresina (AVP) en el núcleo

---

25. Del inglés *licking* y *grooming*, decidimos mantener las siglas originales para no aumentar la excesiva cantidad de abreviaturas aportando otras en castellano.

26. Del inglés *arched-back nursing*.

paraventricular del hipotálamo, lo que a su vez estimula la síntesis y liberación de adrenocorticotropina (ACTH) desde la glándula pituitaria anterior (Romero & Sapolsky, 1996). Una vez liberada, la ACTH estimula la corteza adrenal para la síntesis y liberación de glucocorticoides (cortisol en primates, corticosterona en roedores). Los glucocorticoides son un tipo de hormona esteroide que moviliza la producción y distribución de sustratos de energía durante el estrés (Akil & Moreno, 1995) y suprime el funcionamiento de aquellos sistemas que no son necesarios para la supervivencia inmediata (como el sistema inmunitario, la hormona de crecimiento, la función digestiva y la función reproductora).

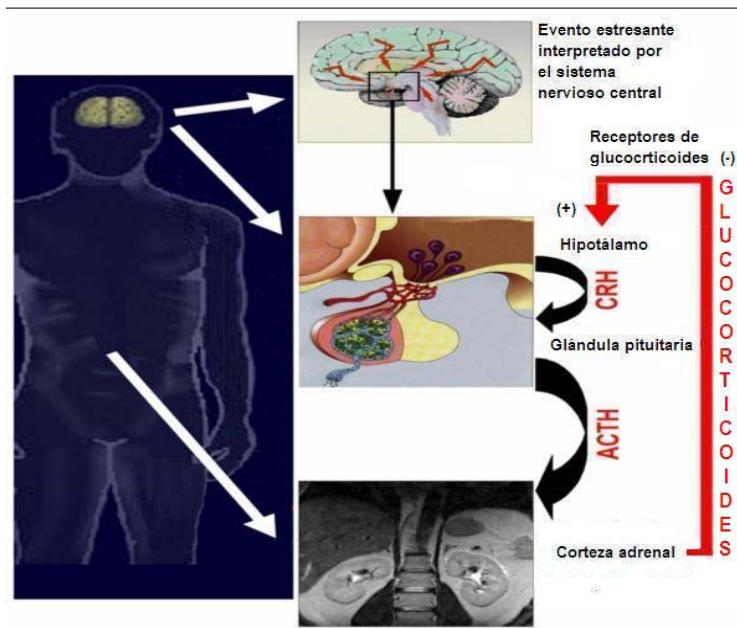


Figura 4. Eje hipotálamo-pituitario-adrenal.

Una respuesta al estrés adaptativa para el organismo incrementa los niveles hormonales ante la presencia de un evento estresante, volviendo después a su línea base. Por el contrario, una exposición prolongada a niveles elevados de glucocorticoides presenta serios riesgos para el organismo:

hipertensión, inmunosupresión, obesidad y aterosclerosis (Sapolsky, 1995), ansiedad y depresión (Essex, Klein, Cho & Kalin, 2002; de Kloet, Rosenfeld, van Eekelen, Sutanto & Levine, 1988; Nemeroff, 2004), y puede afectar negativamente a la población neuronal del hipocampo (Sapolsky, 1996; Vythilingam et al., 2002).

Dado el potencial nocivo de una activación prolongada del eje HPA, el organismo cuenta con un sistema de inhibición que se inicia cuando los propios glucocorticoides activan los receptores de glucocorticoides en el hipocampo, inhibiéndose así la síntesis y liberación de CRH y AVP (Francis et al., 1996). Por tanto, la secreción de glucocorticoides por la corteza suprarrenal está regulada, de forma inhibitoria, por la densidad de receptores de glucocorticoides que se encuentran fundamentalmente en el hipocampo, una región que juega un papel fundamental en la regulación negativa de la liberación de la hormona.

Volviendo al tema de las variaciones en la conducta materna y su influencia en el eje HPA de las crías una vez adultas, se observa que las crías altas en LG-ABN muestran un incremento significativo de la expresión de receptores de glucocorticoides en el hipocampo, y por tanto, una mayor sensibilidad a los efectos inhibitorios de los glucocorticoides y una disminución de los niveles de CRH hipotalámico. Además, estas crías muestran una respuesta reducida de los niveles de ACTH y corticosterona en plasma ante un estrés agudo en comparación con las ratas que tuvieron madres bajas en LG-ABN (Liu et al., 1997). Las crías de madres altas en LG-ABN también mostraron un descenso de los niveles de receptores de CRH en el locus coeruleus, un incremento de los niveles de receptores de ácido gamma amino butírico (GABA)<sup>27</sup> y de benzodiazepinas centrales (CBZ)<sup>28</sup> en los núcleos

---

27. El sistema gabaérgico modula el comportamiento miedoso en situaciones novedosas (File, 1995).

28. Las benzodiazepinas están implicadas en la inhibición de los circuitos neurales del CRH en el núcleo central de la amígdala (Owens & Nemeroff, 1991).

centrales y basolaterales de la amígdala, al igual que en el locus coeruleus (Caldji et al., 1998) lo que indica una respuesta de estrés reducida para las ratas que tuvieron madres altas en LG-ABN en comparación con las ratas de madres bajas en LG-ABN.

Con respecto a los parámetros conductuales de la respuesta de estrés, una vez adultas, las crías de madres altas en LG-ABN muestran una menor respuesta de alarma, mayor tiempo de exploración total en pruebas de campo abierto, y una latencia menor a la hora de empezar a comer alimento proporcionado en un entorno desconocido, lo que refleja un menor nivel de ansiedad en comparación con las ratas que tuvieron madres bajas en LG-ABN (Caldji et al., 1998).

Así pues, una importante evidencia experimental (Caldji et al., 1998; Liu et al., 1997; Meaney, 2001a) muestra cómo la conducta de una madre hacia sus crías puede “programar” la respuesta conductual y neuroendocrina de éstas al estrés a lo largo de toda la vida adulta. Según estos autores, las diferencias individuales en la respuesta de estrés en ratas adultas se deben, al menos en parte, a las variaciones espontáneas ocurridas en el cuidado materno recibido durante la infancia. Estos hallazgos proporcionan un posible mecanismo para explicar la influencia del estilo parental y del estilo de apego desarrollado por el niño sobre la mayor o menor vulnerabilidad a los trastornos asociados al estrés a lo largo de la vida en humanos al margen de las representaciones mentales del apego (Meaney, 2001a, 2001b).

Sin embargo, la investigación animal sobre la influencia de la conducta materna LG-ABN no se agota únicamente con la constatación de consecuencias conductuales y neuroendocrinas ante situaciones de estrés a lo largo de la vida, sino que, además, las crías acaban reproduciendo esa conducta LG-ABN con su propia descendencia. Esta peculiaridad aporta una fascinante analogía de la transmisión intergeneracional en humanos, esto es, la reproducción del vínculo de apego de una generación a la siguiente.



### 2.4.2. Transmisión intergeneracional

Entre los aspectos más intrigantes de los efectos a largo plazo de las experiencias tempranas está la transmisión intergeneracional del apego, esto es, que la interacción de los padres con sus hijos se ve influenciada por las experiencias vividas por esos padres con sus respectivos progenitores. Por ejemplo, padres que experimentaron apego seguro durante su infancia tienden a desarrollar ese mismo estilo de apego con sus propios hijos (Berlin & Cassidy, 1999). Según Bowlby, (1973) las representaciones mentales de las relaciones de apego seguro e inseguro se generan y mantienen a través de la comunicación verbal y no verbal, y a través de esta misma comunicación se transmiten a la generación siguiente.

Curiosamente, este tipo de transmisión intergeneracional del apego no se da única y exclusivamente en el ser humano, sino que determinados rasgos de la conducta materna también se transmiten de generación en generación en otros animales, en ausencia de las representaciones mentales propuestas por Bowlby. Esta gratuidad de las construcciones cognitivas, como condición sine qua non para la continuidad transgeneracional del apego es cuestionada por Suomi, que propone la utilización de modelos animales para el estudio de procesos más básicos, más biológicos, que podrían ser comunes a la transmisión intergeneracional del apego en primates humanos y no humanos (Suomi, 1999):

One insight that the nonhuman primate data bring to discussions about long-term consequences of early experiences is that strong developmental continuities can unfold *in the absence of language or complex imagery*....According to this view, cognitive constructions per se may not be necessary for long-term developmental or cross-generational continuities in attachment phenomena to transpire; that is, such continuities are essentially programmed to occur in the absence of major environmental disruption, and are in fact the product of strictly biological processes that reflect the natural evolutionary history of advanced primate species, human and nonhuman alike. (p. 194)

Esta constatación de la transmisión del apego de una generación a la siguiente en animales pone en entredicho las capacidades cognitivas superiores como requisito necesario para que dicha transmisión tenga lugar. De hecho, gran parte de la investigación animal sobre la transmisión intergeneracional de la conducta materna ha sido estudiada en ratas.

Como habíamos señalado, las ratas bajas en LG-ABN -que se caracterizan por ser más ansiosas- engendran crías que son más sensibles al estrés y que, además, reproducen esa misma conducta materna baja en LG-ABN. Mientras tanto, las crías de madres altas en LG-ABN muestran una conducta menos ansiosa y una conducta materna alta en LG-ABN al igual que sus respectivas madres. De esta manera, se observa que las diferencias individuales en la susceptibilidad al estrés y en la conducta materna en ratas se transmiten de una generación a la siguiente (Francis, Diorio, Liu & Meaney, 1999).

La explicación más natural de esta transmisión intergeneracional de la sensibilidad al estrés y la conducta materna en ratas es que estas conductas están asociadas a un genotipo común, de modo que la continuidad observada de madres a crías estaría mediada por un mecanismo genético (Meaney, 2001a). Sin embargo, estudios realizados por Meaney y sus colaboradores han proporcionado una elegante evidencia experimental a favor de una transmisión no genética de las diferencias individuales en la respuesta de estrés y en la conducta materna (Francis et al., 1999). Mediante el empleo de una estrategia de crianza cruzada, tal como se ilustra en la Figura 5, los autores han realizado intercambios de crías entre camadas de madres altas y bajas en LG-ABN para así aclarar el papel que juegan la genética y la conducta materna en la transmisión intergeneracional. A partir de estos estudios de crianza cruzada, se encuentra que las crías muestran una sensibilidad al estrés y un estilo materno en la vida adulta similar a los de la madre "adoptiva" en comparación con la madre biológica. Esto sugiere un mecanismo de transmisión no genético de la sensibilidad al estrés y de la posterior conducta materna en las crías, que

tendría lugar por medio de la interacción con la madre (Francis et al., 1999).

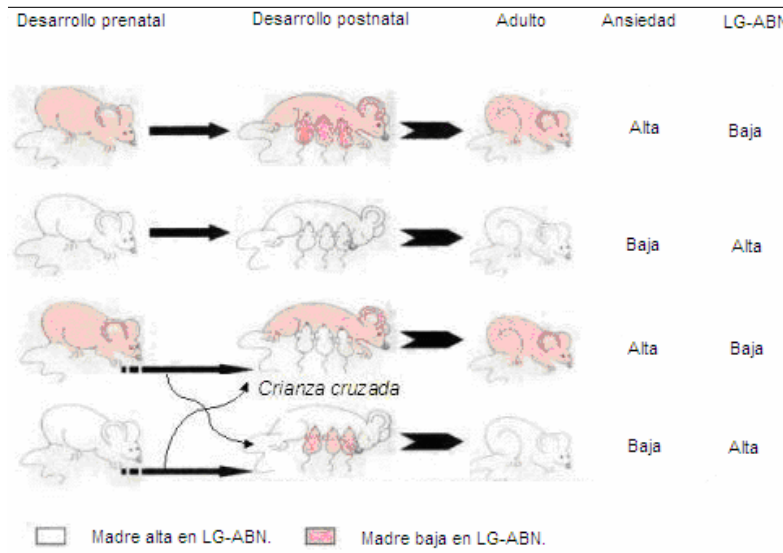


Figura 5. Transmisión intergeneracional de la ansiedad y la conducta materna.

Más en detalle, se observa que las crías biológicas de madres bajas en LG-ABN criadas por madres altas en LG-ABN se comportaron de forma significativamente menos ansiosa en contextos novedosos que las crías criadas por madres bajas en LG-ABN, aunque estas últimas procediesen de madres biológicas altas en LG-ABN. Y viceversa, aquellas ratas criadas por madres bajas en LG-ABN mostraron conductas más ansiosas, aunque su madre biológica fuese alta en LG-ABN. Además, con respecto al comportamiento materno de las ratas “adoptadas”, éstas mostraban la misma frecuencia de LG-ABN que su madre adoptiva independientemente de sus orígenes: las crías procedentes de una madre biológica alta en LG-ABN, pero adoptadas por una madre baja en LG-ABN mostraron una conducta materna baja en LG-ABN mientras que las crías biológicas de madres bajas en LG-ABN criadas por madres altas en LG-ABN mostraron una conducta materna elevada en LG-ABN.

Otra serie de estudios que confirman que la transmisión intergeneracional de la ansiedad tiene lugar en base a las características propias de la madre adoptiva y no de la madre biológica, y que por tanto, la transmisión se produce a través del comportamiento materno, han sido realizados utilizando cepas de ratones que diferían en cuanto a la ansiedad (Zaharia, Shanks, Meaney & Anisman, 1996). La cepa de ratones BALBc se caracteriza por comportamientos extremadamente miedosos y una elevada respuesta del eje HPA al estrés, sin embargo, si estos ratones son criados por madres de una cepa menos ansiosa (C57)<sup>29</sup> entonces se vuelven significativamente menos miedosos y muestran una respuesta del eje HPA al estrés disminuida. La aportación fundamental de este estudio para esclarecer los mecanismos de transmisión intergeneracional estriba en que se observó que las madres C57 no sólo se diferenciaban de las madres BALBc en su dotación genética, sino que además, las ratas C57 se caracterizan por lamer y acicalar el doble que las madres BALBc.

Obviamente, bajo circunstancias normales, los ratones BALBc son criados por madres BALBc. Con este ejemplo, queremos subrayar el hecho de que, habitualmente, la genética (cepa BALBc) y los factores ambientales (baja frecuencia de LG-ABN) son fuerzas redundantes, que en este caso contribuyen ambos a producir animales extremadamente miedosos. En humanos también se encuentran ejemplos que muestran cómo la influencia genética y el entorno que proporcionan los padres trabajan en la misma dirección. Este podría ser el caso de un niño que tiene una madre deprimida y hereda no sólo la vulnerabilidad genética a la depresión, sino también la propia madre deprimida (Field, 1998).

Así pues, los resultados obtenidos mediante los estudios de crianza

---

29. Recientemente cepas de ratones seleccionadas genéticamente por su nivel de ansiedad (C57BL/6J y DBA/2J) han sido utilizados en el procedimiento ABA mostrando una susceptibilidad diferente a las condiciones de dieta y ejercicio (Gelegen et al., 2007). Estas cepas difieren en aspectos comportamentales, fisiológicos y moleculares en respuesta a la restricción calórica (Gelegen, Collier, Campbell, Oppelaar & Kas, 2006). En qué medida las diferencias en la conducta materna pueden estar mediando los niveles de ansiedad, que a su vez parecen ser un factor relevante en la susceptibilidad al ABA, es un enigma tan atractivo como inexplorado.

cruzada han sacado a la luz un mecanismo de herencia insospechado. Con esto no se trata de restar importancia a la dotación genética, sino simplemente de poner de manifiesto de qué manera puede el entorno (en este caso la conducta materna) alterar la trayectoria del desarrollo, no sólo de las crías directamente afectadas, sino también de la generación siguiente.

De este modo, la investigación animal ha aportado un nivel de explicación diferente a los supuestos de la teoría del apego en cuanto a la respuesta de separación materna y el papel de los reguladores ocultos, al enmarcar la necesidad de la figura de apego y su pérdida en términos de homeostasis biológica. Por otra parte, la investigación acerca de la conducta materna de las ratas y sus efectos a largo plazo sobre el eje HPA abre un interrogante acerca de la centralidad de los procesos cognitivo-simbólicos en la “huella” que la interacción materna deja, por ejemplo, sobre el propio sistema de inhibición de la respuesta de estrés. Finalmente, la influencia de la crianza recibida sobre la expresión futura de la conducta materna de la prole es una perspectiva que, como mínimo, sitúa al aparato psicológico en un incómodo margen dentro de la transmisión intergeneracional.

Todas estas cuestiones ahondan en una interpretación más biológica del fenómeno del apego situando la investigación animal en un lugar más central de lo que quizás el mismo Bowlby hubiera sospechado. Llegados a este punto, se vuelve más comprensible la utilización de los modelos animales para el estudio de la relación entre el apego y la anorexia nerviosa, sin la necesidad de invocar constantemente las pretendidas funciones superiores que nos definen como humanos.

## **2.5. Apego y psicopatología: modelos de separación materna en roedores**

Las variaciones en el cuidado materno examinadas hasta el momento se caracterizaban por producirse de forma espontánea (madres altas vs. bajas en

LG-ABN), sin embargo, una fascinante línea de investigación ha surgido en torno a la manipulación experimental de la interacción madre-cría creando un modelo animal para estudiar los efectos de la interrupción del vínculo de apego en ratas.

A mediados del siglo XX, el estudio de los efectos de la separación materna en humanos se veía limitada al estudio de aquellas separaciones que se producían de forma espontánea y excepcional, como la hospitalización o la institucionalización. La imposibilidad de plantearse estudios experimentales de este calibre en humanos hizo que el interés por los efectos separación materna se trasladase al laboratorio animal. Así pues, en la década de 1950, las manipulaciones experimentales tempranas en roedores surgieron con fuerza como modelo alternativo para estudiar de forma sistemática el efecto de las experiencias infantiles sobre el comportamiento adulto, tal como describieron en humanos importantes clínicos de la época como Freud (1936), Spitz (1945, 1946) o Bowlby (Robertson & Bowlby, 1952).

Una de las figuras claves es el Profesor Seymour Levine, que con sus estudios en el Department of Psychiatry and Behavioral Sciences de la Universidad de Stanford, fue uno de los pioneros en el estudio del efecto de las manipulaciones experimentales tempranas en la vida adulta de las ratas (Levine, 1957; Levine et al., 1956). Hasta ese momento, en los trabajos realizados con roedores, las manipulaciones "infantiles" no se realizaban durante la infancia de los animales propiamente dicha, esto es, mientras la camada se encontraba al cuidado de la madre, sino que el tratamiento experimental se iniciaba a partir del día del destete, una vez que las crías ya eran autónomas. Por ejemplo, Otto Weininger (1954), uno de los primeros autores en informar de los efectos beneficiosos de la manipulación temprana en las ratas de laboratorio, realizaba la manipulación de los animales durante los 21 días posteriores al destete. En este estudio, las ratas que fueron manipuladas durante ese periodo (esto es, sostenidas en la mano y acariciadas unos minutos diarios por el experimentador) resultaron tener más peso corporal

y soportaron mejor las condiciones de 48 horas de inmovilización física<sup>30</sup> que las ratas de control no manipuladas. Además, Weininger encontró que las glándulas adrenales de las ratas del grupo de control presentaban hipertrofia y pesaban más que las de las ratas manipuladas, lo que indica hiperactividad del eje HPA en las ratas que no fueron manipuladas.

A partir de los resultados obtenidos por Weininger, Levine sugirió que el efecto sería más profundo si las manipulaciones se realizaban durante las semanas previas al destete, un periodo crítico para la maduración del sistema nervioso central en las ratas, cuando las crías todavía no están completamente desarrolladas y son totalmente dependientes de la madre. A este efecto, en un estudio no publicado Levine comparó ratas manipuladas antes y después del destete y comprobó, tal como suponía, que el efecto de la manipulación era más profundo cuando tenía lugar antes del destete (Levine, 1957). La tasa de mortalidad en condiciones de privación de agua y comida era menor para las ratas manipuladas antes del destete, tanto en comparación con las ratas manipuladas después del destete, como con respecto al grupo de control que no recibió ningún tipo de manipulación.

Además, Levine constató que no era necesario sostener a la cría en la mano y acariciarla durante unos minutos tal como propuso inicialmente Weininger, sino que el simple hecho de separar a la cría de su madre producía efectos similares a los descritos por este autor (Weininger, 1954). El procedimiento de manipulación utilizado por Levine, que pasaría a la historia como uno de los procedimientos estándar en el estudio de las experiencias tempranas en ratas, consistía en separar a las crías de su madre unos minutos diarios durante los primeros 21 días de vida. A este procedimiento de separación materna breve que se caracteriza por producir cambios neuroendocrinos y comportamentales en las crías que favorecen una respuesta

---

30. En 1936, Seyle observó que la inmovilización y la restricción de movimiento en la rata conducía a la manifestación de ciertas características propias del estrés. A partir de estas observaciones, la técnica de inmovilización física se ha convertido en una prueba clásica para inducir estrés en animales.

de estrés moderada se le denominó "*handling*"<sup>31</sup> (Levine, 1957; Levine et al., 1956). Este amortiguamiento de la respuesta del eje HPA ante una situación estresante parece deberse a un incremento de la expresión de receptores de glucocorticoides en el hipocampo y, por tanto, una mayor sensibilidad al feedback negativo de la secreción de glucocorticoides. Esto permite que las ratas *handled* inhiban la síntesis de CRH hipotalámico y puedan frenar la respuesta de estrés de forma más eficaz que a las ratas *no-handled* evitando así los efectos nocivos de una exposición prolongada a niveles elevados de glucocorticoides (Macrí, Mason & Würbel, 2004; Viau, Sharma, Plotsky & Meaney, 1993). Por ejemplo, después de sufrir estrés por inmovilización, la síntesis y liberación de CRH está disminuida en las ratas *handled* en comparación con aquellas ratas que no recibieron *handling* durante la infancia (Plotsky & Meaney, 1993), lo que a su vez va acompañados de una disminución de ACTH y de corticosterona en plasma (Macrí et al., 2004).

Por otra parte, de acuerdo con estos cambios en la respuesta del eje HPA, las conductas de las ratas *handled* sometidas a diferentes pruebas de ansiedad<sup>32</sup> reflejan un menor nivel de ansiedad en comparación con los animales *no-handled*. Así pues, los animales *handled* muestran una mayor exploración y menor defecación en las pruebas de campo abierto (Levine, Haltmeyer, Karas & Denenberg, 1967; Costela, Tejedor-Real, Mico & Gibert-Rahola, 1995), realizan más entradas en los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado (Nuñez et al., 1995) y pasan más tiempo en ellos (McIntosh,

---

31. A lo largo del texto se utilizará el término original en inglés, "handling", introducido por Levine (1957) para referirnos a este tipo de separación materna breve en ratas. La traducción de este término en español por el correspondiente "manipulación" induciría a error ya que este término es utilizado profusamente en el texto para referirnos a otras manipulaciones frecuentes en el contexto de laboratorio (comida, ambiente, temperatura etc.). Como consecuencia de esta decisión, las crías sometidas al procedimiento *handling* serán denominadas "handled". Por otra parte, ya desde Levine, los grupos manipulados suelen ser comparados con un grupo de control en el que la madre está continuamente con las crías hasta el día del destete y se restringe cualquier tipo de manipulación propia del laboratorio hasta ese día. Estas crías serán denominadas "no-handled".

32. Las pruebas más habituales para evaluar ansiedad en roedores se basan en el conflicto existente entre la tendencia natural de explorar un espacio abierto novedoso y la tendencia natural de evitar el riesgo que conlleva explorar ese mismo espacio (File, 1992). El nivel de ansiedad de un animal sometido a estas pruebas se ve reflejado en la actividad locomotora, en la conducta de exploración, en la evaluación del riesgo y en la defecación (Archer, 1973; Ohl, Toschi, Wigger, Henniger & Landgraf, 2001).



Anisman & Merali, 1999; Vallée et al., 1997), además, muestran una latencia menor para empezar comer en un contexto novedoso (Caldji, Francis, Sharma, Plotsky & Meaney, 2000). Esta menor ansiedad de los animales *handled* también se refleja en un mejor desempeño cognitivo en comparación con las crías *no-handled*<sup>33</sup> (Levine, 1957; Levine et al., 1956; Levine et al., 1967; Sapolsky, 1997).

En un primer intento de explicación de este fenómeno, Levine sugirió que era la interacción con el experimentador, por medio del manoseo diario de las crías lo que producía esos efectos beneficiosos (Levine, 1956, 1957). Según este planteamiento, la manipulación de las crías durante el procedimiento *handling* supone un cierto nivel de estrés para el organismo, y esta exposición temprana al estrés se convierte en una oportunidad de adaptación para el organismo que se manifiesta en una mayor habilidad para afrontar las situaciones novedosas y estresantes durante su vida adulta (Denenberg & Karas, 1959; Levine, 1957). En cambio, la ausencia de estimulación propia del grupo de control *no-handled* produce sujetos más ansiosos y susceptibles al estrés en la vida adulta. Sin embargo, como el mismo autor reconoció 15 años más tarde, no era la manipulación de las crías en sí misma lo que producía estos cambios conductuales y fisiológicos en las crías una vez adultas, sino la estimulación de la conducta materna provocada por la breve separación de las crías (Levine, 1975), lo que reconduce los efectos beneficiosos del *handling* al terreno del apego y más concretamente a las variaciones en la conducta materna.

Los trabajos realizados por el grupo encabezado por Michael Meaney en el Department of Psychiatry and Neurology de la Universidad de McGill, en Montreal, confirmaron la sospecha de Levine acerca de la importancia de la

---

33. Más aún, ¡las crías *handled* muestran un mejor desempeño cognitivo en la vida adulta incluso aunque hayan recibido una descarga eléctrica durante el procedimiento *handling*! (Levine et al., 1956). De acuerdo con esto, se ha constatado que tanto las ratas expuestas a *handling*, como a estrés por frío u otra serie de estímulos estresores durante la infancia muestran un incremento en el peso corporal y una disminución de la ansiedad en el test de natación forzada en la vida adulta en comparación con el grupo de control no manipulado (González et al., 1990).

conducta materna, y no el contacto con el experimentador como se pensaba originalmente, como elemento mediador de los efectos protectores del *handling*<sup>34</sup>. Ya nos habíamos referido más atrás al trabajo de Meaney sobre las variaciones espontáneas en la conducta materna de la rata, pero han sido sus contribuciones a la línea de investigación iniciada por Levine lo que le ha convertido en un autor de referencia en el área que estudia la relación entre el cuidado materno durante la infancia y la vulnerabilidad al estrés en la vida adulta.

Así pues, Meaney y sus colaboradores encontraron que la frecuencia de lametazos/acicalamiento y la postura de lomo arqueado (los rasgos LG-ABN del cuidado materno) son los únicos elementos que diferencian a las madres de crías *handled* de las *no-handled* (Liu et al., 1997). Estos autores encontraron que retirar a las crías 15 minutos diarios de su jaula durante los primeros días de vida duplica la tasa de lametazos y acicalamiento por parte de la madre al recuperarlas, adoptando además la postura para amamantar de lomo arqueado de la forma que ya ha sido descrita en el apartado 2.4.1. Así pues, el *handling* altera el comportamiento de las madres induciendo una conducta materna alta en LG-ABN, en comparación con las ratas que no son manipuladas. Y de esta manera, el *handling*, a través del impacto que tiene en la conducta materna, disminuye la magnitud de la respuesta conductual y neuroendocrina de estrés de las crías durante la vida adulta del mismo modo que ha sido previamente descrito para las crías de madres altas en LG-ABN y tal como se detalla en la Figura 6.

Por tanto, según este planteamiento, independientemente de cuál sea el origen de una conducta materna LG-ABN elevada (*handling*, variaciones espontáneas o diferencias genéticas), las consecuencias neuroendocrinas y

---

34. Evidencia adicional de la mediación de la conducta materna en los efectos beneficiosos del *handling* tiene que ver con la ganancia de peso corporal de las crías. En general, el *handling* produce animales más pesados que el *no-handling* en el día del destete, y estas diferencias se mantienen a lo largo de la vida adulta (Denenberg & Karas, 1959; Levine, 1957; Vallée et al., 1997), lo que refleja la calidad del cuidado materno recibido.

conductuales para las crías son las mismas: una respuesta del eje HPA al estrés reducida y un comportamiento menos ansioso ante estímulos nuevos. De hecho, estos autores no encontraron diferencias en la respuesta de estrés de ratas *handled* en comparación con ratas que tuvieron madres altas en LG-ABN de forma espontánea (Liu et al., 1997). Este dato confirmaría, tal como afirma Meaney (2001a), que después de todo, se trataría del mismo mecanismo en ambos casos: la alta frecuencia de LG-ABN.

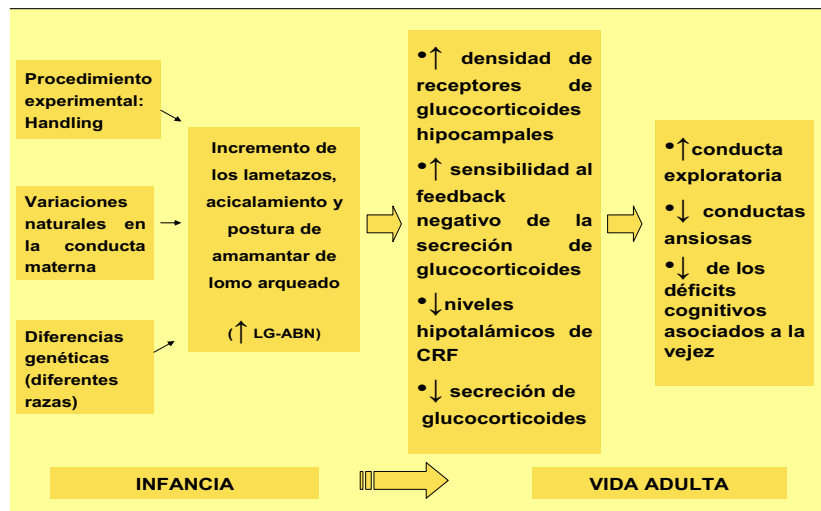


Figura 6. Efectos de la conducta materna en la respuesta conductual y neuroendocrina al estrés en la vida adulta.

### 2.5.1. Del *handling* a la separación materna prolongada

La ausencia de consecuencias negativas del *handling*, aun cuando éste supone una separación materna, puede explicarse a partir de los estudios de Jans y Woodside (1990) quienes observaron que las ratas se alejan regularmente del nido y de las crías durante periodos de 20-30 minutos. Así pues, el *handling*, que tiene una duración máxima de 15-20 minutos, no supondría una ausencia anormal del cuidado materno. Sin embargo, teniendo

en cuenta que el contacto con la madre (calor corporal, estimulación táctil, auditiva y olfativa) es requisito imprescindible para un desarrollo neurológico normal, sería de esperar que una separación materna más prolongada durante los primeros 21 días de vida sí acarrearía algún tipo de consecuencia negativa para las crías.

De esta manera, el *handling* fue la primera manipulación neonatal en roedores que sirvió de puerta de entrada a otros procedimientos de separación más prolongados. El objetivo final de estas separaciones prolongadas era la obtención de un modelo análogo para el estudio de las secuelas de las experiencias infantiles adversas, tales como el abuso y abandono (de Kloet, Sibug, Helmerhorst & Schmidt, 2005).

Los estudios sobre separación materna prolongada en roedores emplean periodos de privación de la madre que varían desde 2 hasta 8, o incluso 24 horas, bien en una única sesión, o bien en sesiones repetidas a lo largo de las dos o tres semanas previas al destete (Ladd, Owens & Nemeroff 1996; Levine, Huchton, Wiener & Rosenfeld, 1992; Suchecki, Nelson, van Oers & Levine, 1995).

No obstante, el periodo de separación materna prolongada más utilizado es el desarrollado por el grupo de Montreal y que consiste en separaciones de 180 minutos cada día durante las dos o tres primeras semanas de vida<sup>35</sup>. Para establecer la duración de este procedimiento, Meaney y sus colaboradores se basaron en las observaciones seminaturalísticas de Calhoun (1962), quien observó que las hembras de ratas subordinadas se veían obligadas a construir sus nidos a mayor distancia de las fuentes de alimentación y agua, de modo que esta posición más baja en la jerarquía las forzaba a pasar 2-3 horas diarias

---

35. El procedimiento original de *handling* y de separación materna prolongada que tenía lugar durante los primeros 21 días de vida se vio reducido a las dos primeras semanas de vida, por ser éstas las más decisivas en el desarrollo neurológico de las crías. Este cambio se fundamenta además, en el hecho que, en condiciones naturales, a partir de la segunda semana de vida las madres se ausentan largos periodos del nido (Weaver, Diorio, Seckl, Szyf & Meaney, 2004).

fuera del nido separadas de sus crías. En comparación con los periodos de 15-25 minutos rutinarios de ausencia materna observados por Jans y Woodside (1990), esa ausencia tan prolongada de las madres subordinadas supone obligatoriamente una privación de los reguladores ocultos (Hofer, 1982, 1984, 1987, 1996) ya que durante los primeros días de vida de las crías la madre pasa un 80-85% del tiempo en el nido, periodo durante el cual amamanta a la camada de forma casi ininterrumpida<sup>36</sup>.

Las investigaciones llevadas a cabo, fundamentalmente por el equipo de Meaney, con este periodo de 180 minutos de separación diaria durante los primeros 21 días en la vida de las crías, revelan consecuencias para los animales que van en la dirección prevista. Así, frente a los efectos de los 15 minutos de separación del *handling*, las separaciones maternas prolongadas parecen producir un incremento de la magnitud de la respuesta del eje HPA al estrés por inmovilización y de las conductas ansiosas ante un contexto novedoso (Anisman, Zaharia, Meaney, & Merali, 1999; Francis et al., 1996; Meaney, 2001a).

Tomadas en conjunto, las investigaciones sobre privación materna, que incluyen los procedimientos señalados de *handling*, *no-handling* y separación prolongada, parecen dibujar un continuo creciente de ansiedad en las crías dependiendo del cuidado materno recibido. Sin embargo este continuo no se corresponde de forma unívoca y directa con la cantidad de separación ya que el *handling* sería el extremo menos ansiógeno del continuo, la separación prolongada el extremo opuesto (más ansiógeno), y el *no-handling* se situaría entre ambos, tal como se detalla en la Figura 7A. Esta representación recoge la mayor parte de los resultados obtenidos con grupos sometidos a diferentes

---

36. Una consecuencia del déficit de cuidado materno que supone esta separación, es que el número de crías de hembras subordinadas que sobreviven hasta el día del destete es inferior al de las hembras dominantes, además, el peso corporal de las crías, suele correlacionar con el rango social que ocupa la madre (Schultze & Lore, 1993). De esta manera, los grupos experimentales sometidos a una separación materna de 180 minutos suelen tener un peso corporal inferior a los grupos *handled* y *no handled*, lo cual una medida indirecta del déficit de cuidado materno sufrido en la infancia (McIntosh et al., 1999).

niveles de separación materna y en los cuales los animales separados<sup>37</sup>, en comparación con los animales *no-handled* y *handled*, pasan menos tiempo explorando los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado (Kalinchev, Easterling, Plotsky & Holtzman, 2002), tardan más en acercarse por primera vez a la comida en contexto novedoso, y muestran una respuesta de sobresalto incrementada ante estímulos acústicos elevados (Caldji et al., 2000). En línea con lo anterior, los niveles de ACTH y de corticosterona en plasma se encuentran incrementados en los animales separados en comparación con los animales *handled* o *no-handled* (Plotsky & Meaney, 1993; Kalinchev et al., 2002).

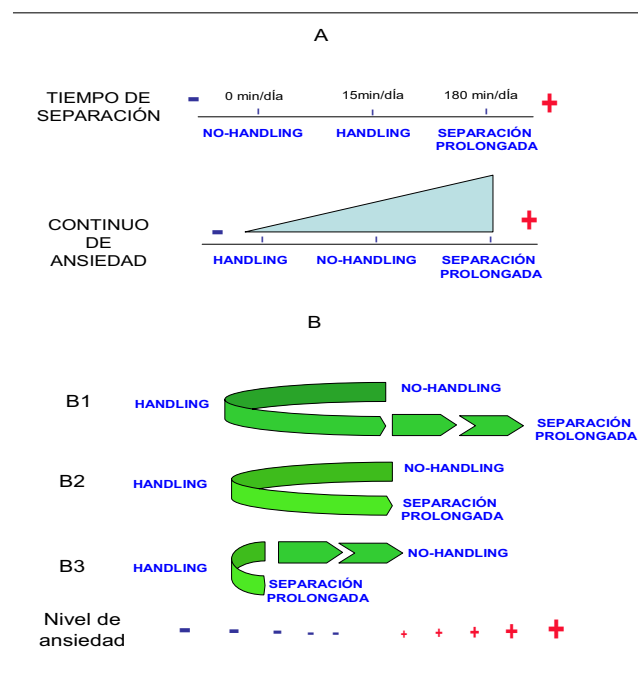


Figura 7. Modelización de la relación entre la magnitud de separación materna y la respuesta de ansiedad en la vida adulta de las crías. A. Representación inicial de las diferencias en la respuesta de estrés de

37. De aquí en adelante cuando se utilice el calificativo de "separados" nos estaremos refiriendo a separaciones maternas de 180 minutos siempre y cuando no se indique lo contrario.

los animales sometidos a *handling*, *no-handling* y separación materna prolongada. B1. Representación alternativa, en forma de herradura, del modelo anterior. Este modelo permite representar, en las variantes B2 y B3, cómo las ratas separadas mueven su posición relativa con respecto a los otros dos grupos a lo largo del continuo ansiógeno, permitiendo así la representación de algunos resultados que no encajan con la modelización original representada en el modelo A.

Aunque a partir del continuo de ansiedad formulado desde el grupo de Meaney se pueden representar los resultados más abundantes, aceptados como normativos, sin embargo, existen otros resultados que no encajan en este modelo lineal. En la Figura 7B se encuentra una representación alternativa en forma de herradura que permite representar esos otros resultados además de los resultados normativos (Figura B1).

Así pues, de acuerdo con las representaciones B1, B2 y B3 de la Figura 7, se pone de manifiesto que los datos referidos a los grupos *handled* en comparación con los *no-handled* son relativamente consistentes y están bien definidos. En cambio, la posición relativa del grupo sometido a la separación materna más prolongada no está tan clara, ocupando unas veces el extremo más ansiógeno (B1), aproximándose otras al grupo *no-handled* (B2) y mostrando incluso una respuesta de estrés mínima, como si del *handling* se tratase (B3).

Así, el modelo representado en la Figura B2 recoge aquellos estudios en los que la separación materna prolongada y el *no-handling* tienen un efecto muy parecido en los animales adultos, produciéndose un incremento del comportamiento ansioso y de la respuesta del eje HPA similar para ambos grupos (Caldji et al., 2000; Macrí et al., 2004; Plotsky & Meaney, 1993).

Por su parte, el modelo B3 es una variante que recoge los resultados de las separaciones maternas prolongadas que van en la misma dirección que el *handling*, esto es, una disminución de la respuesta neuroendocrina y de los comportamientos ansiosos en comparación con el *no-handling* (Marmendal,

2005; McIntosh et al., 1999; Pryce, Bettschen & Feldon, 2001; Pryce & Feldon, 2003; Slotten, Kalinchev, Hagan, Marsden & Fone, 2006).

### **2.5.2. De vuelta al nido: los cimientos del apego**

Los modelos B2 y B3 representados en la Figura 7 invitan a una reflexión en torno a dos cuestiones que hacen referencia a los mecanismos que subyacen por una parte, a la elevada capacidad ansiógena del *no-handling*, y por otra parte, a la ausencia de diferencias, en algunos estudios, entre los grupos sometidos a *handling* y a separación prolongada.

Según el modelo B2, la posición del grupo *no-handled* con respecto al continuo ansiógeno puede llegar a ser tan extrema como la del grupo que es separado de forma más prolongada. Ante estos resultados, uno no puede menos que preguntarse cuál es el mecanismo por el que una separación materna de 3 o 4 horas, supuestamente estresante tanto para la madre como para las crías y que acarrea una ausencia importante de cuidados maternos, tiene el mismo efecto ansiógeno que dejar a la madre y a las crías al margen de cualquier manipulación.

Una de las desventajas más obvias del empleo de animales es la imposibilidad de acceder al informe de las madres o a los recuerdos infantiles de las ratas adultas. Ante esta limitación, podemos acercarnos a una explicación observando en qué medida los grupos *no-handled* y de separación prolongada se apartan de las condiciones naturales de crianza fuera del laboratorio. En este viaje hacia los cimientos del apego no se necesitan más materiales que lo que ya se ha revisado más atrás con respecto a respuesta de separación, los reguladores ocultos y los comportamientos maternos LG-ABN. Sabemos que la interacción natural entre madre y crías implica separaciones breves en las que la ausencia de la madre supone la discontinuidad de la regulación del sistema madre-cría. Es fácil imaginar que esta discontinuidad en el acceso a los reguladores ocultos suponga un estrés para los indefensos



animales, por la pérdida de temperatura y de acceso a la fuente de alimentación entre otros. Como ya hemos visto, la respuesta de separación va acompañada de vocalizaciones ultrasónicas (¿llanto?) de las crías, una poderosa llamada que acaba una vez que la madre está de vuelta en el nido. Como muestra la investigación sobre el *handling*, estas separaciones breves incrementan la vigorosa interacción entre madre y crías, mediante los comportamientos LG-ABN y el restablecimiento del sistema externo de regulación para las crías. Por lo tanto, la interacción normal madre-crías supone un equilibrio de regulación mutua entre la respuesta de separación y los comportamientos maternos LG-ABN.

Desde esta perspectiva, se pone de manifiesto lo ingenuo de plantear el grupo *no-handled* como grupo de control de los grupos *handled*. Este grupo *no-handled* se caracteriza por la ausencia de interferencias debidas a la manipulación rutinaria en el contexto del laboratorio (cambio de virutas, determinación del sexo de las crías, sacrificio de animales, etc.). De esta manera, la madre de los grupos *no-handled* es “privada” de las separaciones breves que realiza en el medio natural lo que puede resultar estresante para la madre, a la vez que priva a las crías de la cantidad de estrés y/o estimulación rutinaria (subsecuentes a la vuelta al nido de la madre) para desarrollarse con normalidad. En el contexto del laboratorio, el grupo de control *no-handled* estaría por debajo de ese mínimo de estimulación lo que lo convertiría en un grupo infraestimulado<sup>38</sup> (Pryce & Feldon, 2003) ya que la inexistencia de ausencias maternas o de “peligros” para la seguridad del nido (como puede ser la intervención del ser humano en las tareas rutinarias del laboratorio) hace que

---

38. Para solventar esta limitación de la infra estimulación característica del grupo de control *no-handled*, en los últimos años se incluyó un nuevo grupo de control “rutinario” compuesto por ratas procedentes de camadas sometidas a las intervenciones habituales de la rutina diaria del laboratorio (Ladd et al., 2000; Pryce et al., 2001). En consecuencia, este grupo de control recibe más estimulación que el grupo *no-handled*, de manera que apenas se observan diferencias entre el grupo de control rutinario y el grupo *handled* (Huot, Ladd & Plotsky, 2000; Pryce & Feldon, 2003). Aunque este grupo de control rutinario permite subsanar el problema de la infra estimulación propia del grupo *no-handled*, tampoco está libre de inconvenientes. Así pues, tal como ha señalado el propio Levine (2002), este grupo de control rutinario está sujeto a las variaciones que existen entre la rutina de un laboratorio y otro, lo que supone un obstáculo a la hora de estandarizar procedimientos.

la conducta materna se regule a la baja, lo que fomenta una postura más pasiva de la madre, baja en cuidados LG-ABN y que caracteriza aproximadamente al 75% de las madres *no-handled* (Sapolsky, 1997).

De acuerdo con esta línea de razonamiento, los resultados dispares de algunos estudios con grupos de separación materna prolongada, donde se produce un amortiguamiento de la respuesta de estrés similar al *handling* (modelo B3, Figura 7), pueden deberse a variaciones espontáneas en la conducta materna. Esta posibilidad ha sido señalada en estudios que realizaban la separación prolongada de forma individualizada para cada cría (Marmendal, 2005; McIntosh et al., 1999; Pryce et al., 2001) aunque también se ha sugerido en separaciones de camadas completas (Marmendal, 2005; Slotten et al., 2006). En esos estudios la reunión con las crías después de la separación prolongada incrementaba los cuidados maternos LG-ABN de forma intensa, aunque transitoria, de manera que aunque la distribución temporal de los cuidados a lo largo del día era diferente, los niveles globales de conducta materna activa de las madres *handled* y separadas eran similares (Macrí et al., 2004; Pryce et al., 2001). Este nuevo dato, referido al incremento puntual de la conducta materna activa después de la separación prolongada, podría suponer una “compensación” del déficit de cuidado materno previo debido a la ausencia de la madre. Sin embargo, esta idea de “compensación” en la cual el cuidado materno total es el elemento clave, no comprende otros dos aspectos fundamentales de la regulación materna, como son la ritmicidad y la sincronía.

Una debilidad de estos estudios es que se desconoce la proporción de madres altas y bajas en LG-ABN en el grupo de madres separadas, lo que podría estar inclinando la balanza de manera que los resultados se asemejen unas veces al *no-handling* y otras veces al *handling*. Por ejemplo, en el caso de las madres altas en LG-ABN, la separación en sí misma produciría un incremento transitorio del cuidado LG-ABN durante la reunión que compensaría la ausencia previa de regulación externa, pero además, su condición natural de

madre alta en LG-ABN haría que el cuidado materno activo se mantuviese a lo largo de todo el día, lo que produciría ratas adultas similares al *handling*.

En cambio, cuando las separaciones prolongadas producen crías ansiosas, esto se podría deber a una mayor proporción de madres bajas en LG-ABN. De esta manera, puesto que el incremento de la conducta LG-ABN es transitorio, durante el resto del día las crías estarían sometidas a una baja frecuencia de cuidados maternos. Obviamente, aunque esta interpretación es posible, todavía pertenece al mundo de las hipótesis que esperan ser contrastadas.

En general, los modelos de separación materna nos ofrecen una vía para el estudio del apego, y de todas aquellas experiencias infantiles adversas, excepcionales, atípicas en las cuales la literatura científica, y sobre todo la de divulgación, acaba encontrando las causas que nos hacen vulnerables a los más diversos padecimientos físicos y mentales asociadas al estrés (Mauder & Hunt, 2001). Los modelos animales de separación materna son, pues, una herramienta útil para poner a prueba hipótesis como la que pretendemos desarrollar en la parte experimental que sigue a continuación, en la que por primera vez en investigación, se combinan los modelos de separación materna durante la infancia y el modelo ABA en la vida adulta de los animales.



## DESARROLLO EXPERIMENTAL



## Introducción general

Como ya hemos revisado en el capítulo 2 de la parte teórica, las manipulaciones experimentales tempranas de las interacciones madre-cría tienen efectos que perduran a lo largo del ciclo vital del animal (Levine, 1957, 1975). Periodos de separación materna breves, en los cuales las crías de rata son separadas de sus madres durante 15 minutos diarios durante los primeros 21 días de vida –*handling*– tienen efectos beneficiosos sobre la capacidad de los animales para afrontar situaciones estresantes en comparación con periodos de separación materna prolongados (180 minutos cada día durante los primeros 21 días de vida) o la ausencia de *handling*. Según el equipo del Profesor Meaney, que ha encabezado la producción de investigaciones en este ámbito durante estos últimos veinte años, las ratas separadas 180 minutos y las ratas *handled* ocupan los extremos de máxima y mínima ansiedad del espectro respectivamente (Anisman et al., 1998; Francis et al., 1996; Meaney, 2001).

Por otra parte, en el capítulo dedicado a la anorexia nerviosa se ha descrito un procedimiento experimental sumamente estresante que consiste en restringir el acceso a la comida y facilitar el acceso a una rueda de actividad, condiciones bajo las cuales los animales corren cada día más, muestran una pérdida de peso progresiva y no son capaces de incrementar la ingesta diaria de comida lo suficiente como para compensar la pérdida de peso (Routtenberg & Kuznesof, 1967). Este procedimiento se conoce como anorexia basada en la actividad (ABA) y ha sido propuesto como análogo de la anorexia nerviosa en humanos (Epling et al., 1983).

Sin embargo, a pesar del interés que el tema del apego despierta entre los investigadores y clínicos como factor precipitante de la anorexia nerviosa, las implicaciones de los modelos animales de experiencias tempranas basados en la separación (*handling*, *no-handling* y separación prolongada) sobre el modelo animal análogo de la anorexia nerviosa han sido prácticamente

ignoradas hasta el momento actual (Connan & Treasure, 1998). Según nuestro conocimiento, existe un único experimento que examina el efecto de las experiencias tempranas, en este caso manipulando el momento del destete, en la respuesta a la exposición simultánea a restricción de comida y acceso a una rueda de actividad en ratas adultas: Glavin y Paré (1985) informaron que las ratas que habían sufrido un destete prematuro (día 15 de vida) corrieron más y murieron antes que las ratas destetadas más tarde (días 21 o 27 de vida).

El planteamiento de la parte experimental que vamos a desarrollar a continuación pretende estudiar los efectos de las experiencias tempranas en ratas adultas sometidas al modelo ABA revisado más atrás y que consiste en la exposición simultánea a una doble condición: la restricción de comida y el libre acceso a una rueda de actividad. Así pues, para llevar a cabo esta serie de estudios hemos utilizado, en primer lugar, el procedimiento estandarizado por el equipo de Meaney *-handling, no-handling* y separación materna prolongada para reproducir diferentes experiencias tempranas en ratas (Liu et al., 1997); y en segundo lugar, el procedimiento de anorexia basada en la actividad (ABA) que nos permitió inducir anorexia a los animales una vez adultos (Epling et al., 1983). El estudio consecutivo de ratas bajo estos dos procedimientos supone un hito en la investigación ya que no existen estudios en los que ambos procedimientos se hayan utilizado conjuntamente.

El desarrollo experimental de esta tesis consta de tres estudios, el primero realizado en la School of Psychology de la Universidad de Sydney y los dos últimos en el animalario de la Facultad de Biología de la Universidad de Santiago de Compostela. En ellos pretendemos estudiar las consecuencias que puedan tener las separaciones maternas a las que fue sometida la camada en el desempeño de los animales situados bajo condiciones experimentales ABA.



## ESTUDIO 1

### **El efecto del *handling* vs. *no-handling* en el procedimiento de anorexia basada en la actividad.**

Como ya hemos señalado, la respuesta neuroendocrina de las ratas al estrés varía en función del tratamiento recibido en la infancia. Cuando los animales se enfrentan a estímulos estresantes relativamente moderados, como la exposición a un contexto novedoso o la inmovilización física, las ratas que han sido sometidas al procedimiento *handling* muestran una respuesta neuroendocrina al estrés más moderada que las ratas *no-handled* (Ladd et al., 2005; Liu et al., 1997; Viau et al., 1993). Estas diferencias en la respuesta de estrés también se observan en diferentes pruebas conductuales que evalúan ansiedad, como el laberinto en cruz elevado (McIntosh et al., 1999; Nuñez et al., 1995), el test de campo abierto (Costela, Tejedor-Real, Mico & Gubert-Rahola, 1995; Levine et al., 1967) o el test de inhibición del apetito inducida por la novedad (Caldji et al., 1998). Cuando son adultas, las ratas que han sido sometidas a *handling* durante la infancia muestran menor ansiedad y mayor conducta exploratoria en este tipo de pruebas que las ratas *no-handled*.

El objetivo de este primer experimento es comprobar si las ratas sometidas al procedimiento *handling* durante la infancia tienen un mejor desempeño en el procedimiento de anorexia basada en la actividad en comparación con las ratas *no-handled*. Conocidas la respuesta de estrés reducida y la mejor ejecución de las ratas *handled* en comparación con las ratas *no-handled* en diversas pruebas de ansiedad, nuestra hipótesis general afirma que el impacto del procedimiento ABA se verá amortiguado en el grupo de ratas *handled* en comparación con el grupo *no-handled*, por lo que se realizan las siguientes predicciones:

- 1- La actividad en la rueda será inferior para el grupo *handled* en comparación con el grupo *no-handled*.

- 2- La ingesta de comida durante el procedimiento ABA será superior en el grupo *handled* en comparación con la ingesta del grupo *no-handled*.
- 3- Como consecuencia de lo anterior, la pérdida de peso será menor para los animales *handled*, y por tanto, será el grupo que más días resista en el estudio.

Además, una segunda hipótesis formulada con respecto al desempeño en el modelo ABA, afirma que el acceso a la rueda de actividad afectará de forma negativa a la ingesta de comida y al peso corporal para todos los animales independientemente del tratamiento neonatal. Estas hipótesis se afirman tanto para machos como para hembras.

## **1. Método**

### **1.1. Tratamiento neonatal**

Diez ratas gestantes Wistar albino procedentes del *Animal Resources Centre de Perth* (Australia) llegaron al laboratorio de la *School of Psychology* de la Universidad de Sydney la semana anterior a dar a luz. Las hembras fueron instaladas en cajas plásticas individuales de 46 x 32 x 16 cm, con una rejilla superior donde el agua y la comida estuvieron siempre disponibles. Las cajas se acondicionaron con virutas y pañuelos de papel como material para construcción del nido. La temperatura de la habitación se mantuvo a 21°C y el ciclo luz-oscuridad tenía su inicio de forma natural a las 0700 y se terminaba a las 1700, aproximadamente, en el momento del experimento. Antes de que el nacimiento tuviese lugar, las camadas de cada hembra fueron asignadas aleatoriamente a la condición *handling* (H) o *no-handling* (NH).

Sólo 9 de las 10 hembras dieron a luz (las camadas oscilaron entre 9 y 15 crías), de modo que 5 camadas fueron asignadas a la condición H y 4 a la condición NH. El día del nacimiento se designó Día 0 y el procedimiento del *handling* tuvo lugar diariamente a las 1100 desde el Día 1 hasta el Día 20. Durante este procedimiento, las madres de los animales H eran retiradas de la caja-hogar y ubicadas en otra caja individual (la misma caja cada día para cada madre). A continuación, las crías eran retiradas de la caja-hogar y situadas todas juntas en otra caja (la misma caja cada día) en otra habitación, con el objetivo de evitar posibles molestias -debidas a los ultrasonidos que emiten las crías separadas- a las camadas NH. 15 minutos después se devolvía a las crías a la caja original y otros 5 minutos más tarde se devolvía a la madre. Los animales NH fueron mantenidos al margen de cualquier manipulación (excepto la rutina de laboratorio que incluía cambio de virutas una vez a la semana) hasta el destete.

El Día 21 todas las crías fueron destetadas, distribuidas en grupos del mismo sexo y procedentes de la misma camada y trasladadas al estabulario donde permanecieron hasta que pasaron a la fase experimental como se describe más adelante.

### **1.1. Sujetos**

Treinta y dos machos y 32 hembras fueron seleccionados para pasar a la fase experimental (véase Figura 8). Se utilizaron un máximo de 4 machos y 4 hembras procedentes de la misma camada con el objetivo de evitar cualquier confusión posible debida a un efecto de camada<sup>38</sup>. Los machos tenían 42 días de edad cuando empezaron en el procedimiento experimental ABA (Día 0). Dieciséis machos procedían de camadas H (rango de peso 131-182 g), y los 16 restantes eran animales NH (rango de peso 134-173 g). Las hembras fueron evaluadas a los 75 días de edad (Día 0). Dieciséis hembras procedentes de

---

38. Excepto en 2 camadas de la condición H donde la relación de machos y hembras era desproporcionada y se utilizaron sólo 2 machos y 2 hembras.

camadas H (rango de peso 202–254 g), y las 16 hembras restantes de camadas NH (rango de peso 197–230 g).

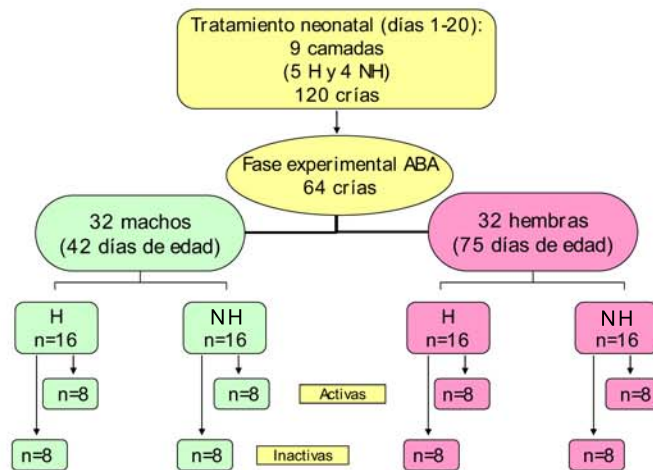


Figura 8. Esquema del procedimiento y composición de la muestra del Estudio 1.

### 1.3. Aparatos

El laboratorio constaba de 16 ruedas de actividad de dos tipos. Todas ellas presentaban una circunferencia de 1.1 m de desarrollo y 10 cm de ancho. Ocho de las ruedas tenían las paredes de plexiglás y el suelo formado por cilindros metálicos. Estas ruedas disponían de una caja de plexiglás adosada, de 33 x 21 x 19 cm, con una rejilla metálica superior donde se introducía la botella de agua y la comida. Mientras tanto, las otras 8 ruedas tenían paredes metálicas y el suelo de rejilla. Las cajas adosadas a estas ruedas también eran de rejilla metálica, de 25 x 15 x 12 cm, y dentro de las mismas se depositaba la comida mientras que la botella de agua se introducía por un agujero lateral. El acceso a la rueda se controlaba mediante una puerta corredera situada entre la

rueda y la caja adosada. Por otra parte, las ratas de control, que no tuvieron acceso a la rueda de actividad, fueron alojadas individualmente en cajas de plexiglás, de 33 x 21 x 19 cm, con una rejilla metálica superior donde se introducían la botella de agua y la comida. Todas las cajas fueron acondicionadas con virutas.

#### **1.4. Procedimiento**

Tres días antes de comenzar la fase experimental, todas las ratas fueron pesadas a diario para proceder a seleccionar aquellas cuyo peso se acercaba más a la mediana del peso de cada camada. Los animales seleccionados fueron entonces asignados a las condiciones de Actividad (grupo experimental con acceso a la rueda) e Inactividad (grupo de control sin acceso a la rueda) mediante una asignación aleatoria por bloques (constituidos por el peso), tal como se detalla en la Tabla 5. Estos animales fueron trasladados de la sala de estabulación al laboratorio para entrar en una fase pre-experimental que consistía en 2 días de pre-exposición a la rueda durante los cuales el acceso al agua y a la comida fue ilimitado. Las ratas asignadas a la condición de Actividad fueron alojadas en las cajas adosadas a las ruedas de actividad y tuvieron acceso a ellas durante 2 horas diarias. Mientras que las ratas asignadas a la condición de Inactividad permanecieron en sus cajas individuales durante esos dos días. El objetivo de la pre-exposición a la rueda es que los animales se familiaricen con el material antes de introducir la restricción de comida, aunque su efecto principal es que aumenta la carrera y acelera la pérdida de peso de los animales en la fase experimental propiamente dicha. Durante estos 2 días, y en el resto del experimento, todas las ratas fueron pesadas entre las 1000 y las 1040 horas cada día.

El procedimiento experimental (Día 0) se inició con la retirada de la comida a las 1500 horas para todas las ratas y la apertura de las puertas de acceso a la rueda para las ratas asignadas a las cajas con rueda. Desde el Día 1 en adelante todas las ratas recibieron la comida de 1330 a 1500 horas,

periodo durante el cual se impidió el acceso a las ruedas. La ingesta diaria de comida se calculó pesando la comida al inicio y al final de cada periodo de alimentación. El criterio estándar para retirar a los animales del modelo ABA es que alcancen un peso corporal igual o inferior al 75% de su peso inicial durante dos días consecutivos (Doerries, Stanley & Aravich, 1991). Sin embargo, este criterio no pudo ser mantenido para los machos debido a su pérdida de peso excepcionalmente rápida. Por cuestiones éticas, estos animales fueron retirados en el momento en que su peso alcanzó el 80% de su peso corporal inicial. El criterio para retirar a las hembras del experimento fue que alcanzasen un peso corporal igual o inferior al 80% del peso inicial (Día 0) durante 2 días consecutivos. El criterio por el cual se considera que una rata ha empezado a recuperar peso fue definido como peso corporal en el Día n mayor que peso corporal en el Día n - 4, tal como se establece habitualmente para el procedimiento ABA (Gutiérrez et al., 2006; Routtenberg & Kuznesof, 1967). La duración total del estudio se estableció en 14 días, tiempo más que suficiente para que la mayor parte de los animales hayan alcanzado uno de los dos criterios. Una vez retirados los animales de la situación experimental, y por tanto sin acceso a una rueda de actividad, se les permitió acceso ilimitado a la comida.

### **1.5. Diseño**

El hecho de no disponer de ruedas de actividad suficientes para estudiar machos y hembras al mismo tiempo hizo que no pudiésemos incorporar el factor sexo en el diseño. De modo que los machos, cuyo peso se incrementa más rápidamente que el de las hembras, fueron evaluados en primer lugar. Tanto para machos como para hembras se utilizó un diseño factorial 2 x 2: un primer factor fue el Tratamiento neonatal recibido durante la infancia, *handling* vs. *no-handling*, mientras que la diferencia entre las condiciones del segundo factor reside en el acceso a la rueda de actividad por parte del grupo experimental –Activo- ausente en el grupo de control –Inactivo- tal como se

mostró en la Figura 8 y se detalla en la Tabla 5. Todos los animales estaban sujetos al mismo programa restrictivo de comida de 1.5 h diarias.

	Activo	Inactivo
<i>Handling</i>	H-A (n = 8)	H-I (n = 8)
<i>No-handling</i>	NH-A (n = 8)	NH-I (n = 8)

Tabla 5. Diseño del Estudio 1. Abreviaturas: H = *Handled*; NH = *No-handled*; A = Activo, grupo experimental con acceso a la rueda; I = Inactivo, grupo de control sin acceso a la rueda.

## 1.6. Análisis estadístico

Se analizaron 5 variables dependientes: peso corporal, ingesta de comida, vueltas en la rueda de actividad, días para recuperarse y días para alcanzar el criterio de retirada. Para los análisis concernientes a las tres primeras variables se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas a lo largo de los días hasta que la primera rata fuese retirada, con el Tratamiento neonatal y la Actividad como factores independientes. En los casos en que los datos de estas tres variables no cumplan el supuesto de esfericidad se aplicará la corrección de Greenhouse-Geisser.

La *t* de Student fue aplicada para comparar las posibles diferencias iniciales entre los diferentes grupos experimentales en peso corporal, ingesta y actividad. Los días para alcanzar los criterios de recuperación y retirada se analizaron mediante un análisis no paramétrico (*U* de Mann-Whitney). Y un alfa de 0.05 fue empleado para todos los análisis.

## 2. Resultados

A continuación se refieren los resultados de este primer estudio en relación con las hipótesis formuladas.

## 2.1. Peso corporal

El peso inicial (Día 0) para los machos H, con una media ( $\pm$  Error Típico) de 155.2 ( $\pm$  3.62) g, no fue significativamente diferente del peso de los machos NH, con un peso medio de 147.2 ( $\pm$  3.51) g,  $t(30) = 1.667$ ,  $p = 0.106$ . Tal y como se detalla en la Tabla 6, tampoco surgieron diferencias de peso debidas al tratamiento neonatal una vez que los animales fueron asignados a la condición de Activad o Inactividad.

	Actividad	Inactividad
<i>Handling</i>	153.2 ( $\pm$ 4.55 ) g	157.1 ( $\pm$ 6.19) g
<i>No-handling</i>	147.7 ( $\pm$ 5.33) g	146.8 ( $\pm$ 5.32) g

Tabla 6. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) para los machos (Día 0).

En la Figura 9 se muestra la evolución a lo largo de los días del porcentaje de pérdida de peso de los machos una vez que se inició la restricción de alimentación y las ratas tuvieron acceso a la rueda de actividad hasta el día en que fue retirada la primera rata. Los machos perdieron peso rápidamente, y al segundo día de haberse iniciado la restricción de comida ya tuvo que ser retirado el primer animal con acceso a la rueda de actividad.

El ANOVA con medidas repetidas aplicado a lo largo de los 3 días anteriores a que alguna rata Inactiva fuese retirada muestra que el Tratamiento neonatal produjo diferencias significativas en la pérdida global de peso, de modo que los animales NH Inactivos perdieron más peso que los animales H Inactivos,  $F(1, 14) = 4.914$ ,  $p = 0.044$ , aunque no hubo interacción entre grupo y pérdida de peso a lo largo de los días,  $F(1.235, 17.29) = 3.247$ ,  $p = 0.082$  indicando que la tasa de pérdida de peso corporal a lo largo de los días fue similar para los machos Inactivos H y NH. En relación a los machos Activos, el tratamiento neonatal no produjo ninguna diferencia en la pérdida de peso corporal entre los machos H y NH,  $p > .05$ .



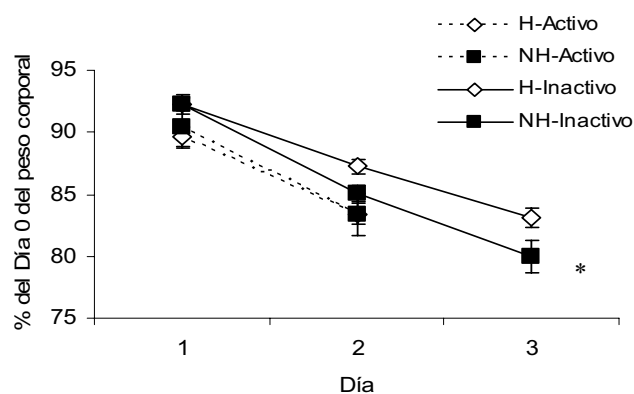


Figura 9. Medias ( $\pm$  Error Típico) del peso corporal de los machos relativo al peso en Día 0 a lo largo de los días. Las medias se muestran hasta el día en que la primera rata fue retirada de un grupo ( $n = 8$ ). \* Los animales NH Inactivos perdieron más peso que los H Inactivos.

Todos los machos, independientemente del Tratamiento neonatal recibido y de la condición de actividad asignada tuvieron que ser retirados del experimento. El tiempo que tardó cada grupo en alcanzar el criterio de retirada puede verse en la Tabla 7. Los análisis no paramétricos de estos datos revelan que entre los machos H los animales Inactivos sobrevivieron más días que los Activos como suele ser habitual en este tipo de procedimiento,  $U = 5.500$ ,  $p = 0.003$ .

	H-A	H-I	NH-A	NH-I
Ratas que alcanzaron el criterio de retirada	8	8	8	8
Media de los días previos a la retirada	3	4.6*	3.2	3.8

Tabla 7. Número de ratas y media de los días para alcanzar el criterio de retirada para los machos. Nota: Ningún animal alcanzó la categoría intermedia o de recuperación. \*H-I > H-A,  $p < .05$ .

En el caso de las hembras, el peso inicial de las ratas H, con una media de 224.5 ( $\pm 4$ ) g fue superior al de las ratas NH, con una media de 210.5 ( $\pm 2.9$ ) g,  $t(30) = 2.913$ ,  $p = 0.007$ , lo que indica la existencia de diferencias en el peso

corporal de las hembras debido al Tratamiento neonatal recibido. Una vez asignados los animales a las condiciones de Actividad/Inactividad, la diferencia de peso entre las hembras H y NH disminuyó aunque siguió rozando el nivel de significación tanto para las ratas Activas,  $t(14) = 2.2027$ ,  $p = 0.062$ , como para las Inactivas  $t(14) = 1.961$ ,  $p = 0.070$  (véase el peso corporal para cada grupo en la Tabla 8). Esta ausencia de diferencias significativas en el peso de las hembras H y NH en los subgrupos Activo e Inactivo se puede deber al menor tamaño de los grupos comparados ( $n = 8$ ).

	Actividad	Inactividad
<i>Handling</i>	224.3 ( $\pm 6.5$ ) g	224.6 ( $\pm 5.6$ ) g
<i>No-handling</i>	209.4 ( $\pm 4.5$ ) g	211.6 ( $\pm 4.4$ ) g

Tabla 8. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) para las hembras (Día 0).

Como era de suponer debido a su mayor peso y edad, las hembras perdieron peso de forma más gradual que los machos.

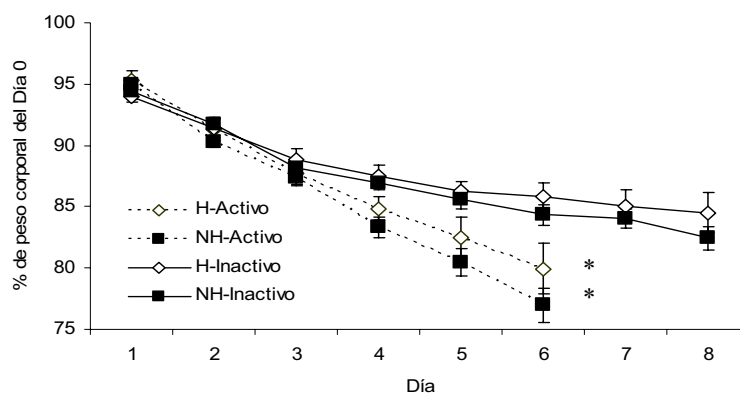


Figura 10. Medias ( $\pm$  Error Típico) del peso corporal de las hembras relativo al peso en Día 0 a lo largo de los días. Las medias se muestran hasta el día en que la primera rata fue retirada de un grupo ( $n = 8$ ). \* La pérdida de peso corporal en las ratas Activas a lo largo de los días fue superior y más rápida que en las ratas Inactivas, tanto para los grupos H como NH,  $p < .05$ .

En la Figura 10 se puede ver cómo la pérdida de peso de las ratas Activas fue más rápida que la de las Inactivas, tanto para las hembras H,  $F(1.487, 20.813) = 9.588$ ;  $p = 0.002$ , como las NH,  $F(2.386, 33.4) = 19.989$ ,  $p = 0.000$ , confirmándose de este modo el efecto estándar de la actividad sobre la pérdida de peso.

No obstante, aunque la Figura 10 sugiere que la pérdida de peso fue más rápida para los animales NH, no hubo efecto general o interacción relacionada con el tratamiento neonatal (H vs. NH) que resultase significativo, siendo la más próxima  $F(2.35, 29.89) = 1.584$ ,  $p = 0.221$ .

Mientras que el análisis de los datos anteriores a la retirada de alguna hembra no mostró ningún efecto del *handling* sobre la resistencia al procedimiento ABA, este efecto se reveló en relación a los días que necesitó cada grupo para alcanzar el criterio de retirada. Como se describe en la Tabla 9, las hembras NH Activas alcanzaron este criterio significativamente antes que las hembras H Activas,  $U = 11.500$ ,  $p = 0.024$ . A diferencia de los machos, sólo 2 hembras en cada una de las condiciones Inactivas tuvieron que ser retiradas, aunque sólo 4 hembras en cada grupo alcanzaron el criterio de recuperación. El peso de las 2 ratas restantes en cada grupo permaneció oscilando por encima del criterio de retirada pero por debajo del de recuperación hasta que finalizó el experimento.

	H-A	H-I	NH-A	NH-I
Ratas en alcanzar el criterio de retirada	8 (8)*	2 (9)	8 (6.5)	2 (9.5)
Ratas en alcanzar el criterio de recuperación	-	4 (9.5)	-	4 (11.5)
Número de animales intermedios	-	2	-	2

Tabla 9. Número de ratas (y número medio de días para cada grupo de hembras) para alcanzar los diferentes criterios de peso corporal<sup>39</sup>. \*H-A > NH-A,  $p < .05$ .

39. Los criterios de retirada y recuperación están definidos en el apartado de procedimiento. Los animales "intermedios" son aquellos cuyo peso no descendió lo suficiente para alcanzar el criterio de retirada ni incrementó lo bastante para alcanzar el criterio de recuperación.

## 2.2. Actividad en la rueda

Durante las dos primeras horas de pre-exposición a la rueda de actividad no surgieron diferencias en el número de vueltas iniciales entre machos H, con una media ( $\pm$  Error Típico) de 119.62 ( $\pm$  98.68) vueltas, y los machos NH, con una media de 132 ( $\pm$  86.78) vueltas,  $t(14) = 0.266$ ,  $p = 0.749$ . De modo similar, tampoco se detectaron diferencias entre las hembras H, con una media de 327.12 ( $\pm$  56.92) vueltas, y las hembras NH, con una media de 184.87 ( $\pm$  56.17) vueltas,  $t(14) = 1.902$ ,  $p = 0.078$ .

Como es habitual en el procedimiento ABA, todas las ratas mostraron un incremento constante de la actividad diaria. No se encontraron diferencias en la actividad entre machos H y NH en el Día 1,  $t(14) = -0.876$ ,  $p = 0.396$ , y puesto que el Día 2 empezaron a retirarse algunos animales activos del experimento, no se realizaron análisis de la actividad de los días posteriores. En el caso de las hembras, se realizaron análisis de la actividad durante los 5 días previos a que la primera rata fuese retirada del experimento, tal y como se muestra en la Figura 11. La tendencia aparente de las ratas NH a correr más que las hembras H no resultó significativa,  $F(1.573, 22.03) = 1.562$ ,  $p = 0.232$ . De manera que el tratamiento neonatal no produjo diferencias en la actividad en la rueda durante el procedimiento ABA.

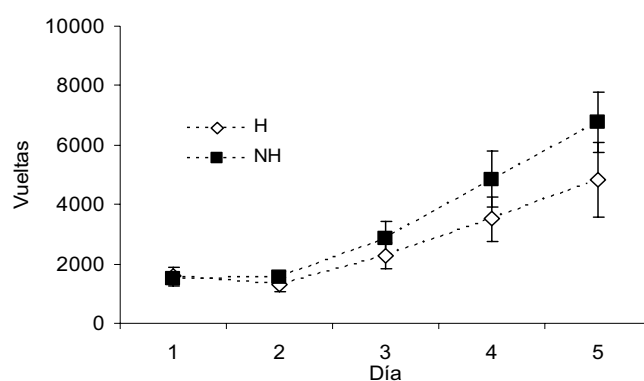


Figura 11. Media ( $\pm$  Error Típico) de vueltas en la rueda por día para cada uno de los grupos de hembras Activas.

### 2.3. Ingesta de comida

Durante los dos días previos a la restricción de la alimentación no hubo diferencias entre los machos H y NH en cuanto a ingesta de comida,  $t(30) = 1.495$ ,  $p = 0.145$ . Dentro de la condición de Actividad la ingesta de comida media para los machos H,  $50.64 (\pm 1.67)$  g, no se diferenció significativamente de los machos NH,  $48.61 (\pm 2.1)$  g,  $t(14) = 0.805$ ,  $p = 0.434$ . Para los machos Inactivos tampoco hubo diferencias entre la ingesta de comida de los animales H,  $49.01 (\pm 2.16)$  g, en comparación con los NH,  $41.06 (\pm 6.14)$  g,  $t(14) = 1.305$ ,  $p = 0.213$ . De este modo, el procedimiento *handling* no tuvo efecto en la ingesta de los machos mientras la comida estuvo disponible las 24 horas del día.

Por otro lado, las hembras H consumieron más comida que las hembras NH durante los dos días previos a la retirada de la comida,  $t(30) = 2.645$ ,  $p = 0.013$ . Esta diferencia se encontró para la condición Activa, donde el consumo medio de comida para las hembras H,  $47.17 (\pm 0.71)$  g, fue mayor que el de las hembras NH,  $43.05 (\pm 1.33)$  g,  $t(14) = 2.927$ ,  $p = 0.011$ . Sin embargo, esta diferencia no fue significativa para las ratas de la condición Inactiva, donde la ingesta media de las ratas H fue de  $45.7 (\pm 1.44)$  g, y la de las hembras NH fue de  $43.39 (\pm 1.65)$  g,  $t(14) = 1.129$ ,  $p = 0.278$ .

En línea con los resultados de la investigación realizada con el procedimiento ABA, la ingesta de comida fue significativamente menor en los animales Activos que en los Inactivos, tal como se puede observar en la Figura 12B. Los análisis realizados sobre la ingesta de las hembras durante los 5 primeros días mostraron diferencias generales entre las ratas Activas e Inactivas tanto para las hembras H,  $F(1, 14) = 39.83$ ,  $p = 0.000$ , como NH,  $F(1, 14) = 46.15$ ,  $p = 0.000$ . Hubo interacción entre ingesta y actividad para las hembras H,  $F(2.1, 29.5) = 3.727$ ,  $p = 0.034$ , y en el caso de las hembras NH se acercó mucho a la significación,  $F(2.33, 32.6) = 3.119$ ,  $p = 0.051$ .

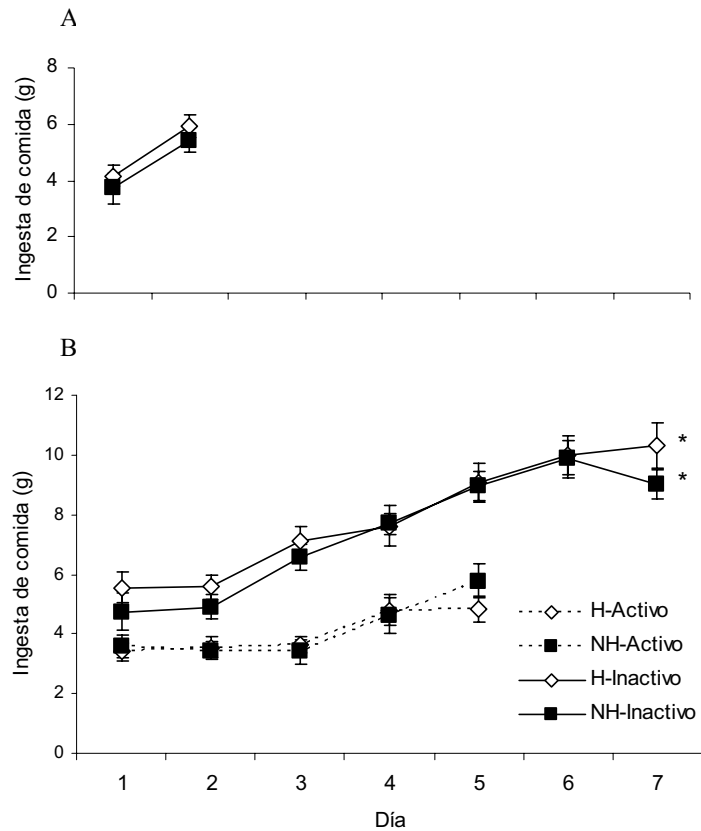


Figura 12. Media ( $\pm$  Error Típico) de la ingesta de comida durante el periodo de 1.5 horas para machos (A) y hembras (B). \* La ingesta de las hembras Inactivas fue superior y más rápida que la de las hembras Activas,  $p < .05$ .

Para los machos Activos, no hubo diferencias en la ingesta de comida en Día 1 entre los animales H y NH,  $t(14) = 0.757$ ,  $p = 0.462$ . No se realizaron análisis de la ingesta de comida de los machos Activos en los días posteriores por las razones explicadas anteriormente. En la condición Inactiva, como se puede ver en la Figura 12A, hay un incremento constante de la ingesta de comida para los machos H y NH,  $F(1, 14) = 57.66$ ,  $p = 0.000$ , pero no se encontró ningún efecto relacionado con las experiencias tempranas, siendo ambas  $p > .05$ . Tampoco en las hembras la ingesta se vio afectada por el

Tratamiento neonatal. A partir del Día 1 la ingesta de comida aumentó para las hembras Activas e Inactivas, ambas  $p = 0.000$ , pero no hubo efecto principal ni interacciones relacionados con el tratamiento neonatal recibido, siendo  $F(1.94, 27.13) = 1.011$ ,  $p = 0.375$  para el grupo Activo, y  $F(3.8, 53.22) = 0.750$ ,  $p = 0.556$  para el grupo Inactivo.

### 3. Discusión

La exposición al procedimiento ABA produjo una disminución de peso corporal tan rápida en los machos Activos que no fue posible detectar ningún efecto de la manipulación neonatal en estos animales. Esto sugiere que un “efecto techo” podría haber impedido la detección de un efecto del *handling* en el procedimiento ABA. Por otra parte, el impacto de la restricción por sí sola fue inusualmente fuerte para los machos Inactivos, lo que permitió detectar un efecto de las experiencias tempranas, donde el *handling* redujo la pérdida de peso en los machos sometidos únicamente a restricción de comida. La poca resistencia de los machos a las condiciones experimentales estuvo posiblemente relacionada con su bajo peso inicial, y más específicamente con la adiposidad (Yi & Stephan, 1996), una variable fundamental para los resultados del procedimiento ABA (Beneke & Vander Tuig, 1996; Paré, 1980).

Cuando las hembras fueron evaluadas, a una edad más avanzada que los machos, el procedimiento ABA produjo una pérdida de peso gradual en las ratas Activas, y esto permitió detectar el efecto de las experiencias tempranas: las ratas H resistieron más días bajo condiciones de restricción de alimentación y acceso a la rueda de actividad hasta alcanzar el criterio de retirada del experimento. Por el contrario, cuando las hembras Inactivas fueron sometidas a restricción de comida mostraron una pérdida de peso mucho más lenta, y en este caso no se detectaron diferencias debidas a las experiencias tempranas. Esto último podría interpretarse como un “efecto suelo”, en el que el impacto de la situación estresante (1.5 h diarias de acceso a la comida) fue demasiado

moderado de manera que no permitió la detección del efecto de un factor adicional como puede ser el Tratamiento neonatal.

Cuando las ratas son igualadas en edad, las ratas más pesadas son las que pierden peso de forma más gradual bajo las condiciones de restricción de comida y acceso a la rueda de actividad (Boakes & Dwyer, 1997; Yi & Stephan, 1996). Consecuentemente, es posible que el efecto del *handling* detectado bajo estas condiciones sobre la pérdida de peso de los animales esté mediado por las diferencias en el peso corporal inicial, ya que las hembras H fueron más pesadas que las hembras NH en el Día 0 del procedimiento ABA. La existencia de estas diferencias al inicio del experimento volvió más peliaguda la interpretación de la mayor resistencia de las hembras H al procedimiento ABA, ya que podría deberse en parte a la superioridad del peso corporal inicial de este grupo.

Esta diferencia en el peso corporal inicial de las hembras es consistente con estudios que informan que el procedimiento *handling* produce un incremento del peso corporal en las ratas, un hecho detectado por algunos autores (Denenberg & Karas, 1959; Vallée, Mayo, Maccari, Le Moal & Simon, 1996), aunque no confirmado por todos (Ader, 1965; McIntosh et al., 1999). Sin embargo, los machos NH en la condición de Inactividad perdieron más peso que los machos H a pesar de que no se diferenciaron en el peso corporal del Día 0. Esto sugiere que el *handling* podría tener un efecto directo en la respuesta a la privación de comida, además del que pueda tener mediante el peso corporal inicial. Este efecto directo podría estar relacionado con la actividad del eje HPA y la respuesta de estrés, sensible a las experiencias tempranas (Francis et al., 1996; Vallée et al., 1996).

La ausencia de diferencias en actividad e ingesta de comida entre animales H y NH (ver Figuras 11 y 12) sugiere que el efecto de las experiencias tempranas en la pérdida de peso no es un efecto secundario producido, por ejemplo, por la reducción de la actividad o por el incremento de la ingesta de



comida de rata cuando la comida está disponible 90 minutos al día. Más bien, los resultados de este experimento sugieren que el *handling* reduce el impacto de la restricción de comida, sobre todo si se combina con el acceso a una rueda de actividad, como en el procedimiento ABA, de forma directa y no como resultado de los efectos en la actividad o en los niveles de ingesta de comida.

Una explicación posible de por qué el efecto del *handling* resultó limitado en este experimento estaría relacionada con las características del grupo de control NH. Los resultados beneficiosos del *handling* parecen estar mediados por la respuesta materna provocada por este procedimiento. El procedimiento *handling* utilizado en este experimento incrementa la frecuencia con la que la madre lame y acicala a las crías y favorece la postura de amamantamiento de lomo arqueado (LG-ABN) en comparación con las ratas que no son manipuladas. Existe evidencia de que estos cuidados maternos son los que desencadenan una serie de cambios fisiológicos en las crías y, a su vez, los responsables de una respuesta de ansiedad moderada (Caldji et al., 1998; Levine, 1975; Liu et al., 1997; Meaney, 2001a).

El comportamiento materno no ha sido objeto de estudio en este experimento, pero varios estudios encuentran que aproximadamente un tercio de las madres sin manipular son altas en LG-ABN (Caldji et al., 1998; Levine, 1975; Liu et al., 1997; Sapolsky, 1997). Esto plantea la posibilidad de que los efectos del *handling* obtenidos aquí fuesen moderados a causa de la inclusión espontánea de madres altas en LG-ABN en el grupo NH.

Las variaciones espontáneas en el estilo materno de las ratas sin manipular pueden ser un aspecto útil para entender mejor las diferencias individuales en la pérdida de peso corporal, lo que lleva a diferenciar entre anorexia severa y moderada (Epling & Pierce, 1984), e incluso a la recuperación de algunas ratas con la misma edad, sexo y peso iniciales (Gutiérrez et al., 2002; Morrow et al., 1997). De esta manera, una posible

explicación sería que estas diferencias individuales en el procedimiento ABA se deban a diferencias en el cuidado materno recibido durante la infancia.

Los resultados obtenidos aquí presentan algunas dificultades de interpretación relacionadas con la diferencia de edad de los machos y hembras utilizados en el experimento. La rápida pérdida de peso corporal en los machos nos hizo tomar una postura más conservadora con respecto a las hembras, lo que produjo una gran diferencia de edad que impidió la comparación de los resultados obtenidos con machos y hembras. Estas complicaciones, debidas al mayor peso corporal de los machos en comparación con las hembras, han pasado desapercibidas en estudios previos en los cuales la conducta de las ratas es evaluada en procedimientos más tradicionales, como pueden ser la prueba de campo abierto o el laberinto en cruz elevado, donde el peso corporal de los animales no es un aspecto relevante (Caldji et al., 1998; Nuñez et al., 1995; Vallée et al., 1997). Sin embargo, en el caso que nos ocupa, no es fácil resolver de qué manera se podrían estudiar los efectos del factor sexo en un estudio que analiza el impacto de las experiencias tempranas en el procedimiento ABA por las siguientes razones: en primer lugar, el peso inicial es un factor clave en la resistencia al procedimiento ABA, en segundo lugar, los machos son más pesados que las hembras a cualquier edad, y en tercer lugar, el impacto de las experiencias tempranas puede variar en función de la edad a la que son evaluados los sujetos (Ackerman et al., 1978; 1989).

A partir de este experimento podemos concluir por una parte, que las ratas H pierden peso más lentamente que las ratas NH cuando son sometidas a restricción de comida a una edad temprana, antes de que surjan diferencias de peso marcadas (machos). Por otra parte, a una edad más avanzada, el procedimiento *handling* parece producir una mayor resistencia al impacto de la actividad en la pérdida de peso, aunque esto podría estar mediado por el peso inicial superior las ratas H (hembras).

## ESTUDIO 2

### **Efecto de la separación materna prolongada durante la infancia en comparación con el procedimiento de separación breve (*handling*) y la ausencia de separación en el procedimiento de anorexia basada en la actividad.**

A partir de los resultados relativamente moderados obtenidos en el Estudio 1 al comparar ratas *handled* y *no-handled*, ya que el *handling* no ofreció una protección especial a los animales sometidos al procedimiento ABA, nos proponemos abordar la relación entre las experiencias tempranas y el desempeño de los animales en el procedimiento ABA desde una nueva perspectiva, incluyendo un tercer grupo sometido a una separación materna prolongada (180 minutos). La inclusión de un grupo sometido a una experiencia supuestamente adversa podría permitir una mejor panorámica de los efectos a largo plazo de las experiencias infantiles, ya que la modalidad de separación materna prolongada que emplearemos ha sido propuesta como modelo de abuso o abandono infantil (de Kloet et al., 2005). Según la hipótesis más extendida, las ratas separadas 180 minutos muestran un comportamiento más ansioso en comparación con las ratas *handled* y *no-handled*, tal como se representó en el modelo B1 de la Figura 7 en la parte teórica. Este modelo ha sido originalmente propuesto para organizar los resultados obtenidos con las diferentes modalidades de separación materna (*handled*, *no-handled* y separación prolongada), sin embargo, datos recientes procedentes de grupos de separación materna prolongada no se ajustan bien a este esquema y parecen representarse mejor con los modelos alternativos B2 y B3 de la Figura 7.

En este segundo estudio se prestará especial atención al peso corporal inicial de los animales sometidos al procedimiento ABA para evitar que surjan

diferencias iniciales en esta medida. Esto nos permitirá confirmar el efecto del Tratamiento neonatal en el desarrollo de la anorexia por actividad señalado en el Estudio 1, donde la interpretación de la mayor supervivencia de las hembras H en el procedimiento ABA se vio enturbiada por la existencia de diferencias iniciales en el peso corporal de los animales.

Así pues, de manera similar al primer estudio realizado, el objetivo principal de este segundo estudio será comprobar las diferencias en el desempeño de las ratas sometidas a tres tratamientos neonatales diferentes, *handling* (H), *no-handling* (NH) y separación materna prolongada (S), bajo las condiciones del procedimiento de anorexia basada en la actividad. Puesto que el rendimiento del grupo H en el primer estudio no fue claramente superior al del grupo NH, y dado que los animales separados de forma prolongada no han sido nunca evaluados mediante el procedimiento ABA, partimos de la hipótesis original, que es la más parsimoniosa, y que sugiere un peor desempeño para el grupo de separación prolongada. A tal respecto, nuestra hipótesis afirma que el grupo sometido a separación prolongada presentará un peor desempeño en el procedimiento ABA en comparación con los grupos H y NH. A su vez se espera que el grupo NH tenga un peor desempeño que el H. De acuerdo con esta hipótesis general, se realizan las siguientes predicciones tanto para los machos como para las hembras:

- 1- La actividad física en la rueda será superior para el grupo S, en comparación con los grupos H y NH.
- 2- La separación materna prolongada afectará de forma negativa a la ingesta de comida del grupo S en comparación con los otros dos grupos.
- 3- Como consecuencia de lo anterior, el grupo S perderá más peso y de forma más rápida que los grupos H y NH, y por tanto, será el grupo que menos días resista en el experimento.

Asimismo, con respecto al desempeño en el modelo ABA una segunda hipótesis afirma que para todos los grupos (H, NH y S) sometidos a restricción de alimentación, el acceso a la rueda de actividad supondrá una mayor reducción en la ingesta y una pérdida de peso más acusada.

## 1. Método

En la Figura 13 puede verse un esquema temporal general del diseño empleado en este segundo estudio. Una descripción más detallada del procedimiento se encuentra a continuación en el texto.

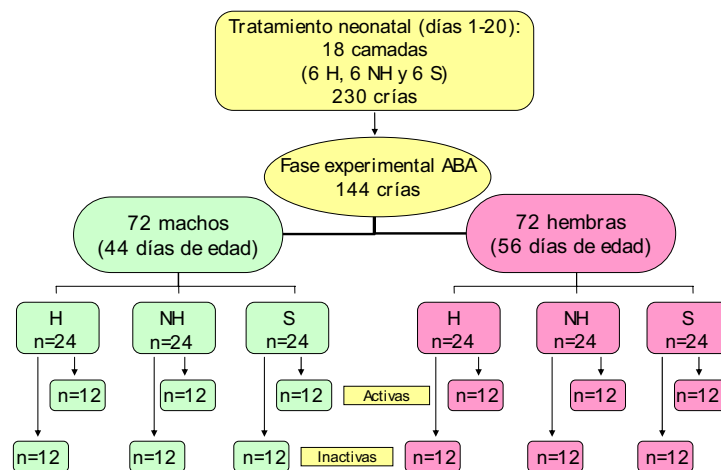


Figura 13. Esquema del procedimiento y composición de la muestra del Estudio 2.

### 1.1. Tratamiento neonatal

Dieciocho hembras gestantes Sprague-Dawley procedentes del animalario central de la USC llegaron al estabulario del animalario de la Facultad de Biología una semana antes de dar a luz. Las hembras fueron

alojadas individualmente en cajas de plexiglás de 60 x 35 x 20 cm, acondicionadas con virutas y algunos pañuelos de papel como material para que las hembras pudiesen construir el nido. El agua y la comida estuvieron siempre disponibles en la rejilla superior de la caja. La temperatura ambiente del estabulario se mantuvo a 21°C y el ciclo de luz-oscuridad de 12/12 horas tenía su inicio a las 0800. Antes de que el nacimiento tuviese lugar, las camadas de cada hembra fueron asignadas aleatoriamente a las condiciones H, NH o S (véase Figura 14). El día del nacimiento de las crías se designó Día 0, y las manipulaciones experimentales tuvieron lugar desde el día 1 hasta el día 20 de edad (ambos incluidos) entre 1030 y 1330.

El grupo asignado a la condición de *handling* fue manipulado diariamente entre 1030 y 1050, tal como se describió en el Estudio 1 (Carrera, Gutiérrez & Boakes, 2006), exceptuando el hecho de que los 15 minutos de separación transcurrieron en una caja incubadora equipada con una lámpara cerámica (Exo Terra) de 150 W regulada con un termostato digital (Cromoelectra) con el objetivo de mantener la temperatura a 30°C. Esta modificación en el procedimiento con respecto al Estudio 1, se realizó para asegurar que todos los animales separados de sus madres estuvieran en un ambiente similar y evitar la hipotermia en el caso de los animales que fueron separados de forma más prolongada.

El procedimiento de separación materna prolongada tuvo lugar diariamente desde las 1030 hasta las 1330 desde el Día 1 al 20 de vida y fue idéntico al del *handling*, sólo que las crías permanecieron separadas de su madre durante 180 minutos en vez de 15. Los animales NH no se manipularon en absoluto<sup>40</sup> hasta el día del destete. Finalmente, el Día 21 todos los animales fueron destetados, pesados y alojados en cajas (de 3 a 5 animales por caja) según sexo y tratamiento hasta el comienzo de la fase experimental. Las camadas oscilaron entre 11 y 15 crías.

---

40. Exceptuando las prácticas de mantenimiento del laboratorio que se retomaron el Día 9 para todas las camadas.



*Figura 14.* En el panel izquierdo pueden verse las crías durante la separación materna. En el panel derecho se puede ver una camada sin manipular.

Debido a la imposibilidad material de alojar, y posteriormente evaluar, a todas las camadas simultáneamente, las hembras gestantes fueron encargadas de forma sucesiva. Así, este estudio se realizó en tres tandas de 6 camadas cada vez, dos camadas asignadas a cada una de los tres Tratamientos neonatales H, S y NH.

## **1.2. Sujetos**

De los 230 animales nacidos en el laboratorio de las 18 madres gestantes, se utilizaron 144 animales en la segunda fase el estudio (72 machos y 72 hembras). Se utilizaron un máximo de 4 animales machos y 4 hembras procedentes de la misma camada con el objetivo de evitar cualquier confusión posible debida a un efecto de camada. Los machos tenían entre 43 y 45 días de edad cuando empezaron en el procedimiento experimental ABA (Día 0). Veinticuatro machos procedían de camadas H (rango 212-251 g), otros 24 de las camadas S (rango 219-245 g) y los 24 restantes de las camadas NH (rango 209-250) tal como se muestra en la Figura 13. Las hembras fueron evaluadas a los 54-59 días de edad. Veinticuatro hembras procedían de camadas H (rango 201-241 g), otras 24 de las camadas S (rango 197-242 g) y las 24 restantes de las camadas NH (rango 202-246).

### **1.3. Aparatos**

El laboratorio constaba de 12 ruedas de actividad de dos tipos, aunque todas ellas tenían una circunferencia de 1.1 m de desarrollo y 10 cm de ancho. Ocho de las ruedas tenían las paredes de plexiglás y el suelo de rejilla metálica. Estas ruedas contaban con una caja de plexiglás adosada, de 28 x 28 x 14 cm, con rejilla metálica superior donde se introducía la botella de agua y la comida. Las otras 4 ruedas tenían paredes metálicas y una caja de rejilla metálica adosada de 26 x 16 x 13.5 cm, dentro de las cuales se introducía la comida mientras que la botella de agua se introducía por un agujero lateral. El acceso a la rueda se controlaba a través de una puerta corredera situada entre la rueda y la caja adosada. Las ratas de control, que no tuvieron acceso a la rueda de actividad, fueron alojadas individualmente en cajas de plexiglás de 28 x 28 x 14 cm, con una rejilla metálica superior donde se introducía la botella de agua y la comida. Todas las cajas fueron acondicionadas con virutas.

### **1.4. Procedimiento**

Tres días antes de comenzar la fase experimental, todas las ratas fueron pesadas a diario para proceder a seleccionar a aquellos 72 animales cuyo peso había alcanzado los 220 g, lo cual ocurrió en torno a los 44 días de edad para los machos, y los 56 días de edad aproximadamente para las hembras. Se estableció este criterio de peso corporal inicial por dos razones: en primer lugar, para evitar las diferencias de peso iniciales halladas entre las hembras H y NH y que dificultaron la interpretación de los resultados en el Estudio 1, y en segundo lugar, para evitar que se produjese una disminución de peso tan acusada como la ocurrida en los machos Activos del primer experimento debida a su bajo peso inicial. Los animales incluidos en la fase experimental fueron entonces asignados a las condiciones de Actividad (grupo experimental con acceso a la rueda) e Inactividad (grupo de control sin acceso a la rueda) mediante una asignación aleatoria por bloques (constituidos por el peso), y trasladados al laboratorio para entrar en la fase experimental inicial que



consistía en 2 días de pre-exposición durante los cuales tuvieron acceso ilimitado al agua y a la comida. Durante esta fase de pre-exposición, las ratas asignadas a la condición de Actividad, alojadas en las cajas adosadas a las ruedas de actividad, tuvieron acceso a éstas durante 2 horas diarias. Mientras que las ratas asignadas a la condición de Inactividad permanecieron en sus cajas individuales durante esos 2 días. Durante estos 2 días, y en el resto del experimento, todas las ratas fueron pesadas entre las 1000 y las 1040 horas cada día.

El procedimiento ABA se inició (Día 0) con la retirada de la comida a las 1500 horas y la apertura de las puertas de acceso a la rueda para las ratas Activas. Desde el Día 1 en adelante todas las ratas recibieron la comida de 1330 a 1500 horas. Durante el periodo de alimentación se impidió el acceso a las ruedas y la ingesta diaria de comida se calculaba pesando la comida al inicio y al final de cada periodo de alimentación. El criterio para retirar a los machos y a las hembras del experimento fue el habitual en la literatura y se sitúa en la caída del corporal igual o inferior al 75% del peso en el Día 0. El criterio por el cual se considera que una rata ha empezado a recuperar peso fue definido como peso corporal en el Día n mayor que peso corporal en el Día n - 4, tal y como se establece habitualmente para el procedimiento ABA. Al igual que en el primer estudio, la duración máxima del procedimiento ABA se estableció en 14 días.

### **1.5. Diseño**

El hecho de haber utilizado el peso corporal como criterio para seleccionar a los animales impidió que el sexo fuera manejado como un factor, ya que como los machos ganan peso más rápido, fueron evaluados primero y las hembras después. Para cada grupo se utilizó un diseño factorial 3 x 2: el primer factor fue el Tratamiento neonatal recibido durante la infancia – H, S o NH – y el segundo factor fue el acceso, o no, a la rueda de actividad – Activo vs. Inactivo – (véase Tabla 10).

	Activo	Inactivo
<i>Handling</i>	H-A (n = 12)	H-I (n = 12)
Separación	S-A (n = 12)	S-I (n = 12)
<i>No-handling</i>	NH-A (n = 12)	NH-I (n = 12)

Tabla 10. Diseño del Estudio 2. Abreviaturas: H = *Handled*; S = Separado; NH = *No-handled*; A = Activo, grupo experimental con acceso a la rueda; I = Inactivo, grupo de control sin acceso a la rueda.

### 1.6. Análisis estadístico

Se analizaron 5 variables dependientes: peso corporal, ingesta de comida, vueltas en la rueda, días para recuperarse y días para alcanzar el criterio de retirada. De acuerdo con las predicciones realizadas desde las hipótesis se realizaron los siguientes análisis con el objeto de poner a prueba esas predicciones:

Análisis de varianza (ANOVA) de un factor para comparar el peso de todos los animales de los diferentes grupos neonatales en el día del destete y antes de la entrada en la fase pre-experimental. Ya en la fase experimental propiamente dicha y para comparar las medidas iniciales de cada grupo experimental en peso corporal, e ingesta se aplicó un ANOVA factorial (dos factores: Tratamiento neonatal y Actividad), además de un ANOVA de un factor para la actividad. Estas mismas pruebas se utilizaron para comparar los días que tardaron los animales en alcanzar los criterios de retirada y recuperación. Además, se utilizó la prueba  $\chi^2$  cuadrado para comparar el número de animales procedentes de cada condición neonatal que alcanzaron el criterio de recuperación.

Para estudiar la evolución del peso corporal, la ingesta de comida y las vueltas en la rueda a lo largo de los días hasta que la primera rata fuese retirada del experimento, se realizaron ANOVAS de medidas repetidas con el Tratamiento neonatal y la condición de Actividad como factores independientes. En los casos en que los datos de estas tres variables no cumplan el supuesto

de esfericidad se aplicará la corrección de Greenhouse-Geisser. Un alfa de 0.05 fue empleado para todos los análisis.

## **2. Resultados**

A continuación se detallan los resultados de este segundo experimento con respecto a las predicciones realizadas desde las hipótesis. Se presentarán los resultados para cada uno de las variables dependientes (peso, actividad, ingesta y días para alcanzar los criterios de retirada y recuperación) y dentro de cada uno de los apartados se expondrán primero los resultados para los machos y luego los de las hembras.

### **2.1. Peso corporal**

El peso corporal de las camadas antes de iniciar el procedimiento ABA sirve como medida indirecta de la calidad del cuidado materno recibido. La aplicación de un ANOVA de un factor reveló la existencia de diferencias significativas en el peso corporal de los machos el Día 21 de vida en función del tratamiento neonatal recibido,  $F(2, 84) = 8.309$ ,  $p = 0.001$  (véase Figura 15). Las comparaciones post hoc (realizadas a través de la prueba de Tuckey siempre que no se indique otra prueba diferente) resultaron estadísticamente significativas, obteniéndose que los machos NH tuvieron un peso corporal inferior al de los machos S,  $p = 0.000$ , en el día del destete. Estas diferencias en el peso corporal siguieron presentes en el Día 41 de vida,  $F(2, 110) = 11.774$ ,  $p = 0.00$ . Los análisis post hoc realizados resultaron estadísticamente significativos, observándose que, antes de seleccionar a los sujetos que pasarían a la fase experimental, los machos NH tenían un peso corporal inferior al de los otros dos grupos,  $p = 0.000$ . No hubo diferencias de peso entre machos H y S,  $p > .05$ .

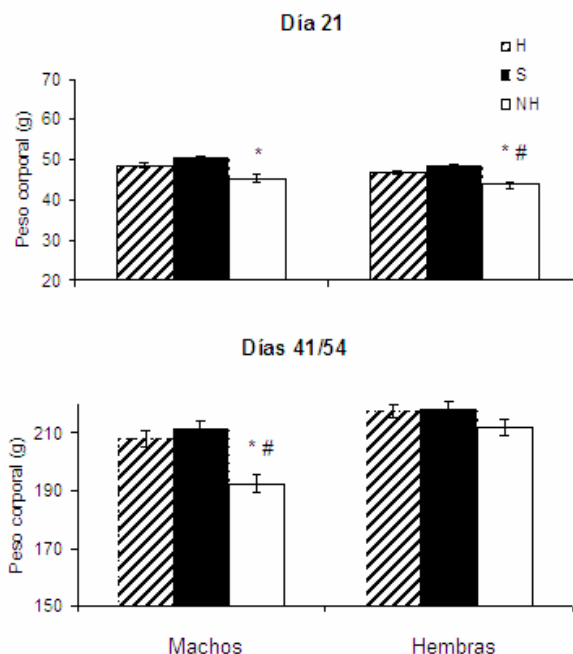


Figura 15. Peso corporal de las camadas en el Día 21 de edad y antes de iniciar el procedimiento experimental (Días 41 y 54 de edad para los machos y las hembras respectivamente). \* El peso corporal de las ratas NH fue inferior al peso corporal de las ratas S,  $p < .05$ , y #, el peso de las ratas NH fue inferior al de las ratas H,  $p < .05$ .

Respecto al peso corporal de las hembras en el día del destete, representado en la Figura 15, surgieron diferencias significativas entre los diferentes grupos neonatales,  $F(2, 74) = 5.496$ ,  $p = 0.006$ . Los análisis post hoc resultaron estadísticamente significativos para las comparaciones de las hembras NH frente a las hembras H y S,  $p = 0.046$  y  $p = 0.013$  respectivamente, mostrando que hembras NH tuvieron un peso corporal inferior al de los otros dos grupos que no se diferenciaron entre sí,  $p > .05$ . En el Día 54, aunque se revelaron diferencias en el peso corporal entre los diferentes grupos neonatales,  $F(2, 98) = 3.172$ ,  $p = 0.046$ , sin embargo las comparaciones post hoc no fueron significativas, siendo la comparación entre hembras H y NH ( $p = 0.053$ ) la más cercana a la significación, sugiriendo de nuevo un peso inferior para las ratas NH.

### 2.1.1. Machos

Teniendo en cuenta estas diferencias de peso entre las camadas H, NH y S, se seleccionaron aquellos animales de cada grupo que se situaban en torno a los 220 g de peso para pasar a la fase experimental ABA, lo que implicó seleccionar a los animales NH más pesados de las camadas. A continuación se presentan los resultados relacionados con la variable peso corporal una vez iniciado el procedimiento ABA. En la Tabla 11 puede verse el peso inicial de cada grupo experimental de machos el Día 0 del experimento, una vez que los animales fueron seleccionados y asignados a las condiciones de Actividad e Inactividad.

	H	S	NH
Activo	229.5 ( $\pm$ 2.86) g	232.25 ( $\pm$ 2.89) g	227.17 ( $\pm$ 3.27) g
Inactivo	235 ( $\pm$ 3.05) g	234.75 ( $\pm$ 1.38) g	235.33 ( $\pm$ 2.89) g

Tabla 11. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) de los machos el Día 0.

Un ANOVA factorial demostró, por una parte, que no hubo efecto principal del factor Tratamiento neonatal, esto es, los machos H, S y NH seleccionados no se diferenciaron entre sí en el peso corporal inicial,  $F(2, 66) = 0.335$ ,  $p = 0.702$ . Sin embargo, se observa un efecto principal del factor Actividad,  $F(1, 66) = 6.091$ ,  $p = 0.016$ . Los animales Activos tuvieron un menor peso que los Inactivos en el Día 0 del experimento, 229.64 ( $\pm$  1.65) g frente a 235.03 ( $\pm$  1.37), como consecuencia de las dos horas de acceso a la rueda de actividad durante los dos días previos al Día 0, ya que las medias de los grupos no diferían ( $p > .05$ ) en el momento de composición de los grupos antes de que el grupo Activo tuviese acceso a la rueda. La interacción entre Tratamiento neonatal y Actividad no fue significativa,  $p > .05$ .

Con respecto a la evolución del peso corporal de los animales H, S y NH una vez iniciada la restricción de alimentación, se aplicó un ANOVA con medidas repetidas a lo largo de 4 días para los machos Activos y a lo largo de 7 días para los Inactivos, momento en el que fue retirada la primera rata para cada grupo experimental y no se continuó el análisis de posibles diferencias de grupo en peso corporal.

El peso corporal de todos los animales descendió significativamente a medida que avanzaban los días (véase Figura 16). El tratamiento neonatal no tuvo efecto en la pérdida de peso a lo largo de los días de los machos Activos,  $F(3.23, 53.26) = 0.936$ ,  $p = 0.435$ , ni de los machos Inactivos,  $F(3.77, 62.14) = 0.719$ ,  $p = 0.574$ . Según se representa en la Figura 16 el peso del grupo NH Activo parece superior al de los otros dos grupos en el Día 4, aunque de hecho surgieron diferencias en el ANOVA realizado para ese día en concreto,  $F(2, 33) = 3.35$ ,  $p = 0.047$ , las comparaciones post hoc del grupo NH con el H y el S no resultaron significativas,  $p > .05$ .

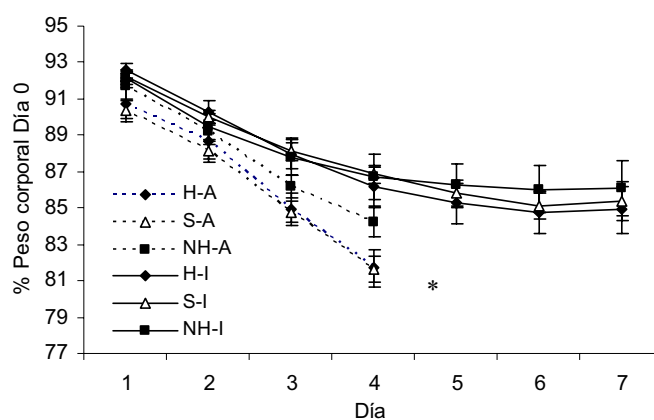


Figura 16. Medias ( $\pm$  Error Típico) del peso corporal relativo al peso en Día 0 para los machos hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo ( $n = 12$ ). \* La disminución del peso corporal de las ratas Activas fue más rápida que la de las Inactivas. Estas diferencias globales entre ratas Activas e Inactivas se confirmaron en el grupo de machos S y H,  $p < .01$ , pero no en el grupo NH,  $p > .05$ .

Tal como se predijo desde la Hipótesis 2, el efecto de la actividad sobre la pérdida de peso corporal fue notable, como muestra el ANOVA entre los grupos Activo vs. Inactivo a lo largo de los 4 días. De modo previsible, los animales Inactivos perdieron menos peso que los Activos,  $F(1, 70) = 23.396$ ,  $p = 0.000$ , y la interacción entre el peso corporal y la condición de actividad fue significativa,  $F(1.51, 105.94) = 12.482$ ,  $p = 0.000$ , resultando más lenta la pérdida de peso para los machos Inactivos a lo largo de los días, y confirmándose así el efecto estándar de la actividad sobre la pérdida de peso.

### 2.1.2. Hembras

Al igual que en el caso de los machos, las ratas hembra no presentaban diferencias de peso en el Día 0 debidas al Tratamiento neonatal recibido,  $F(2, 66) = 0.84$ ,  $p = 0.919$ . En cambio, a diferencia de los machos, las dos horas diarias de acceso a la rueda durante dos días de pre-exposición no produjeron diferencias de peso entre los grupos Activos e Inactivos,  $F(1, 66) = 0.246$ ,  $p = 0.622$ , ni hubo interacción entre ambos factores,  $F(2, 66) = 0.214$ ,  $p = 0.808$ . Es decir, que los grupos experimentales no se diferenciaron en peso corporal inicial (véase peso medio inicial ( $\pm$  Error Típico) en la Tabla 12).

	H	S	NH
Activo	225.75 ( $\pm$ 2.53) g	227 ( $\pm$ 3.14) g	223.33 ( $\pm$ 3.46) g
Inactivo	225.91 ( $\pm$ 3.49) g	223.58 ( $\pm$ 5.03) g	224.42 ( $\pm$ 2.97) g

Tabla 12. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) de cada grupo experimental de hembras el Día 0.

La evolución de la variable peso corporal a lo largo de 4 días en las hembras Activas y a lo largo de 10 días en las Inactivas, momento en el que fue retirada la primera rata para cada grupo experimental, fue analizada mediante un ANOVA con medidas repetidas. El peso corporal de todas las

hembras descendió significativamente a medida que transcurrían los días en el estudio (véase Figura 17), sin que se detectase ningún efecto del Tratamiento neonatal sobre la pérdida de peso a lo largo de los días en las hembras Activas,  $F(2.98, 49.24) = 1.776$ ,  $p = 0.112$ , ni en las hembras Inactivas,  $F(4.82, 79.47) = 0.756$ ,  $p = 0.58$ . Tampoco hubo ningún efecto general en el peso implicando el Tratamiento neonatal,  $p > .05$ .

Al igual que ocurrió con los machos, el acceso a la rueda produjo una pérdida de peso mayor y más acelerada en las ratas Activas que en las del grupo de control Inactivo a lo largo de los cuatro días,  $F(1, 70) = 16.92$ ,  $p = 0.000$ , y  $F(1.91, 133.78) = 75.42$ ,  $p = 0.000$ . Estas diferencias entre hembras Activas e Inactivas se confirmaron en cada uno de los grupos H, S y NH,  $p < .05$ .

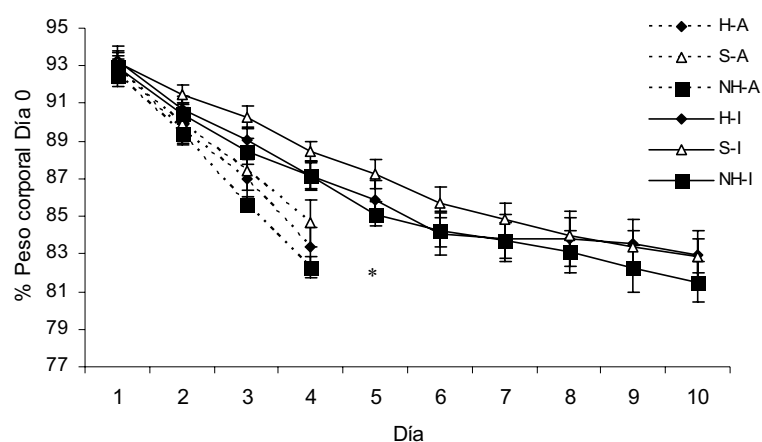


Figura 17. Medias ( $\pm$  Error Típico) del peso corporal relativo al peso en Día 0 para las hembras hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo ( $n = 12$ ). \* La disminución del peso corporal de las ratas Activas fue superior y más rápida que la de las Inactivas. Estas diferencias globales entre ratas Activas e Inactivas se confirmaron para cada uno de los grupos neonatales S, H y NH,  $p < .05$ .



## 2.2. Días para cumplir los criterios de retirada y recuperación

### 2.2.1 Machos

Estrechamente relacionada con la variable peso corporal se encuentra otra variable objeto de estudio: los días que tardaron los animales en alcanzar los criterios de retirada o de recuperación, cuyos datos se muestran en la Tabla 13. De acuerdo con la predicción realizada se esperaba que los animales S resistiesen menos días en el experimento con lo que alcanzarían el criterio de retirada antes que los animales de las otras dos condiciones. Sin embargo, el Tratamiento neonatal no tuvo efecto sobre el tiempo que sobrevivieron los diferentes grupos bajo las condiciones experimentales,  $F(2, 66) = 0.308$ ,  $p = 0.373$ . La única diferencia con respecto a la supervivencia de los animales se registró, como era evidente, dependiendo de la condición de actividad. Los animales de las condiciones H, NH y S que tenían acceso a la rueda de actividad resistieron menos días, o lo que es lo mismo, alcanzaron el criterio de retirada más rápidamente al perder más peso debido a la actividad, ( $F(2, 66) = 154.826$ ,  $p = 0.00$ ) tal como se predecía en la Hipótesis 2.

	H-A	S-A	NH-A	H-I	S-I	NH-I
Animales que alcanzan el criterio de retirada	11	11	11	-	2	1
Media de días para alcanzar la retirada	6.8	6.6	8.4	-	10.5	7
Animales que alcanzan el criterio de recuperación	1	1	1	11	7	11
Media de días para la recuperación	13	5	8	10	9	8.2
Número de animales intermedios	-	-	-	1	3	-

Tabla 13. Número de ratas macho y número medio de días para alcanzar los diferentes criterios de peso corporal para cada grupo experimental.

Como se puede ver en la Tabla 13, todos los machos Activos excepto uno de cada grupo que alcanzó el criterio de recuperación tuvieron que ser

retirados, mientras que la práctica totalidad de las ratas Inactivas resiste los 14 días que dura el experimento de manera que sólo tres machos tuvieron que ser retirados (dos S y uno NH). En el momento de finalizar el experimento, once machos H, once NH, y otros siete machos S de la condición Inactiva habían alcanzado el criterio de recuperación. No hubo diferencias significativas entre el número de animales Inactivos que se recuperó de cada grupo,  $\chi^2 = 5.675$ ,  $p = 0.059$ , ni en los días que tardaron en alcanzar el criterio de recuperación,  $F(2, 33) = 1.626$ ,  $p = 0.212$ . Los pesos de tres ratas S y una rata H Inactivas seguían oscilando por encima del criterio de retirada pero por debajo del criterio de recuperación en el día 14.

### 2.2.2. Hembras

A pesar de la ausencia de diferencias en la pérdida de peso entre los grupos H, NH y S durante los primeros cuatro días hasta que se retiró la primera rata, sí hubo diferencias entre los grupos neonatales teniendo en cuenta la supervivencia total de las ratas hasta que la última rata fue retirada, o hasta que el experimento tocara a su fin en el Día 14,  $F(2, 66) = 4.772$ ,  $p = 0.012$ . Las comparaciones post hoc realizadas para los diferentes grupos neonatales tomados en conjunto independientemente de la condición de actividad (con rueda o sin rueda), muestran que las ratas S tuvieron una mayor supervivencia, tanto en comparación con las H,  $p = 0.043$ , como con respecto a las NH,  $p = 0.016$ . Sin embargo, no hubo diferencias significativas en supervivencia entre las ratas H y NH,  $p > .05$ .

Esta mayor supervivencia del grupo S, se debió al mejor rendimiento de las ratas S en la condición Activa. Tal como reveló un ANOVA de un factor, las diferencias significativas en supervivencia proceden principalmente del grupo de hembras con acceso a la rueda de actividad,  $F(2, 33) = 4.489$ ,  $p = 0.019$ , ya que las hembras Inactivas H, S y NH no se diferenciaron en el tiempo de supervivencia en el experimento,  $F(2, 33) = 0.371$ ,  $p = 0.693$  (véase Tabla 14). Las comparaciones post hoc para las hembras Activas revelaron que las hembras S Activas resistieron más días en el experimento que las hembras NH

Activas,  $p = 0.023$ , y casi alcanzaron la significación con respecto a las hembras H Activas,  $p = 0.062$ .

Como era de esperar, también existió un efecto principal para el factor Actividad,  $F(1, 70) = 352.644$ ,  $p = 0.00$ . Las ratas Inactivas resisten significativamente más días en el experimento que las ratas Activas. Estas diferencias se encontraron también, mediante pruebas  $t$ , entre los animales Activos e Inactivos para cada uno de los grupos H, S y NH, para todas las comparaciones  $p = 0.00$ .

	H	S	NH
Activo	6.8 ( $\pm 0.34$ )	8.6 ( $\pm 0.87$ )	6.4 ( $\pm 0.34$ )
Inactivo	13.7 ( $\pm 0.35$ )	13.9 ( $\pm 0.08$ )	13.7 ( $\pm 0.23$ )

Tabla 14. Número medio ( $\pm$  Error Típico) de días para las ratas hembra antes de alcanzar el criterio de retirada o hasta finalizar el estudio.

A continuación, en la Tabla 15 se detalla el número de ratas hembra y el número medio de días para alcanzar los diferentes criterios de peso corporal para cada uno de los grupos experimentales. Todas las ratas Activas tuvieron que ser retiradas excepto dos ratas S, una de las cuales alcanzó el criterio de recuperación mientras que la segunda se quedó oscilando entre ambos criterios.

	H-A	S-A	NH-A	H-I	S-I	NH-I
Animales que alcanzan el criterio de retirada	12	10	12	1	1	2
Media de días para alcanzar la retirada	6.7	7.5	6.4	10	13	12
Animales que alcanzan el criterio de recuperación	-	1	-	5	2	5
Media de días para la recuperación	-	8	-	10.4	12	10.4
Número de animales intermedios	-	1	-	6	9	7

Tabla 15. Número de ratas hembra y número medio de días para alcanzar los diferentes criterios de peso corporal para cada grupo experimental.

Por otra parte, sólo cuatro hembras Inactivas tuvieron que ser retiradas, dos NH, una H y otra S, mientras que cinco ratas H y NH y otras dos S alcanzaron el criterio de recuperación. El resto de los animales se quedó oscilando entre ambos criterios. No hubo diferencias en el tiempo que tardaron las ratas Inactivas de los diferentes grupos neonatales en recuperarse,  $F(2, 33) = 1.898$ ,  $p = 0.166$ . Ni tampoco surgieron diferencias en el número de hembras Inactivas recuperadas para cada grupo neonatal,  $X^2 = 2.25$ ,  $p = 0.325$ .

### 2.3. Actividad en la rueda

#### 2.3.1. Machos

Durante el primer día de pre-exposición, los grupos H, NH y S no se diferenciaron en cuanto al número de vueltas durante las dos horas de acceso a la rueda,  $F(2, 33) = 0.796$ ,  $p = 0.460$ . Como es habitual en el procedimiento ABA, todos los machos incrementaron progresivamente su actividad diaria, tal como se muestra en la Figura 18.

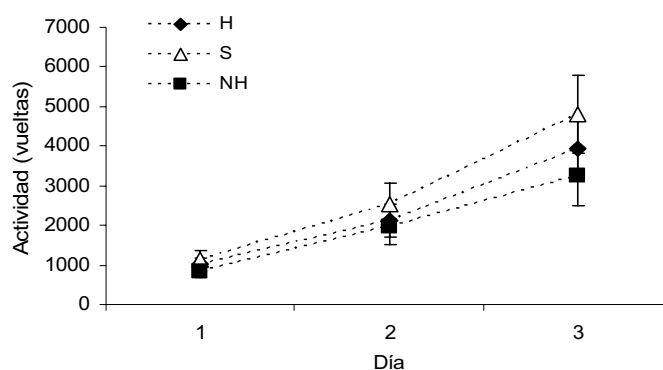


Figura 18. Actividad media diaria ( $\pm$  Error Típico) para cada uno de los grupos neonatales de machos Activos.

Un ANOVA de medidas repetidas aplicado durante los tres días previos a que algún macho fuese retirado del experimento, sugiere que no hubo efectos

del Tratamiento neonatal sobre la actividad en general,  $F(2, 33) = 0.889$ ,  $p = 0.421$ , ni interacciones significativas entre grupo neonatal y el incremento de la actividad a lo largo de los días,  $F(2.5, 41.32) = 0.845$ ,  $p = 0.459$ .

### 2.3.2. Hembras

En el caso de las hembras, tampoco surgieron diferencias en el número de vueltas durante las 2 primeras horas de pre-exposición a la rueda,  $F(2, 33) = 1.058$ ,  $p = 0.165$ . Sin embargo, a diferencia de los machos, un ANOVA de medidas repetidas aplicado durante los tres días previos a que alguna hembra fuese retirada del experimento, muestra que aunque el Tratamiento neonatal no tuvo efecto en la actividad general de las ratas,  $F(2, 33) = 0.997$ ,  $p = 0.380$ , sí hubo una interacción significativa entre la actividad en la rueda y los grupos neonatales a lo largo de los días,  $F(2.95, 48.68) = 3.364$ ,  $p = 0.027$ .

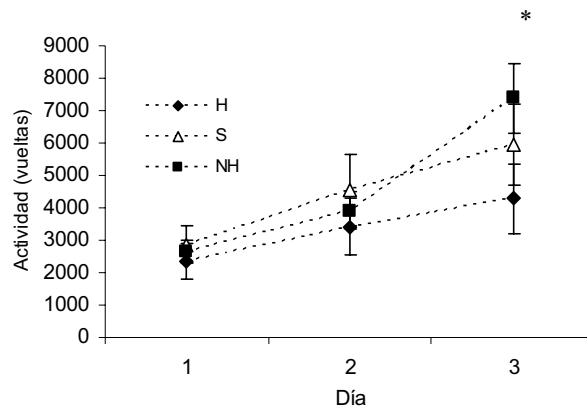


Figura 19. Actividad media diaria ( $\pm$  Error Típico) para cada uno de los grupos neonatales de hembras Activas. \* Existen diferencias significativas en el incremento de la actividad a lo largo de los días para los diferentes grupos neonatales,  $NH > H$ ,  $p < .05$ .

Tal como sugiere la Figura 19, estas diferencias se debieron a que el incremento de la actividad a lo largo de los días fue más acelerado para las

ratas NH en comparación con las ratas H,  $F(1.35, 29.76) = 7.526$ ,  $p = 0.006$ . No surgieron diferencias significativas con respecto al grupo S.

## 2.4. Ingesta de comida

### 2.4.1. Machos

Con respecto a la ingesta de comida durante las 24 horas previas al Día 0 del procedimiento ABA, la aplicación de un ANOVA factorial mostró que no hubo efecto del Tratamiento neonatal sobre la ingesta,  $F(2, 62) = 0.049$ ,  $p = 0.952$ , pero sí del factor Actividad,  $F(1, 62) = 13.479$ ,  $p = 0.001$ . Las ratas Inactivas consumieron más comida que las ratas Activas, debido al efecto del ejercicio de la pre-exposición sobre la ingesta. No hubo interacción entre ambos factores,  $F(2, 62) = 1.027$ ,  $p = 0.364$  (véase Tabla 16).

	H	S	NH
Activo	24.68 ( $\pm 0.84$ ) g	26.1 ( $\pm 1.04$ ) g	25.36 ( $\pm 1.09$ ) g
Inactivo	28.55 ( $\pm 0.74$ ) g	27.52 ( $\pm 0.75$ ) g	27.73 ( $\pm 0.82$ ) g

Tabla 16. Ingesta media ( $\pm$  Error Típico) de comida para los machos durante las 24 horas previas a la fase experimental.

Una vez iniciada la restricción de alimentación, la evolución de la variable ingesta a lo largo de 3 días en los machos Activos y a lo largo de 6 días en los Inactivos se analizó mediante un ANOVA con medidas repetidas.

La ingesta de comida fue incrementándose progresivamente para todos los animales, tal como se muestra en la Figura 20. El factor Tratamiento neonatal no tuvo efecto en la ingesta de comida global para los machos Activos,  $F(2, 33) = 1.395$ ,  $p = 0.262$ , ni para los Inactivos,  $F(2, 33) = 1.198$ ,  $p = 0.315$ , tampoco hubo interacción entre la tendencia de la ingesta a lo largo de

los días y los grupos neonatales,  $F(3.8, 62.6) = 0.997$ ,  $p = 0.413$  para las Activas, y  $F(8.58, 141.53) = 0.466$ ,  $p = 0.889$  para las Inactivas.

Por otra parte, y en la misma línea que los resultados obtenidos para la variable peso corporal, el factor Actividad tuvo un efecto sobre la ingesta global de los animales, siendo superior la de los machos Inactivos en comparación con los Activos,  $F(1, 70) = 13.344$ ,  $p = 0.000$ , e incrementándose ésta más rápidamente a medida que avanzan los días, siendo la interacción significativa,  $F(1.96, 137.14) = 7.053$ ,  $p = 0.001$ .

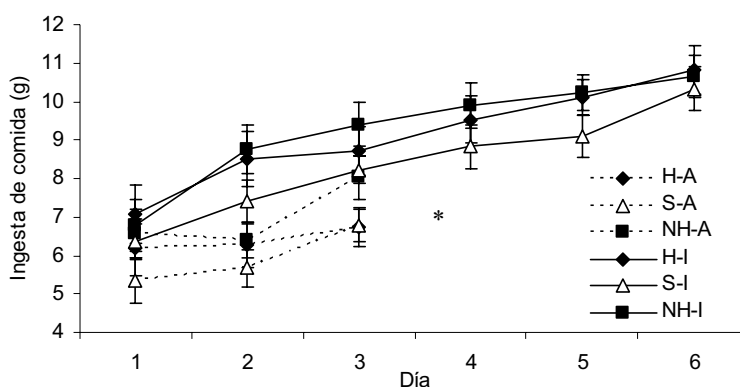


Figura 20. Ingesta media de comida diaria ( $\pm$  Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de machos hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo ( $n = 12$ ). \* La ingesta de comida de las ratas Inactivas fue superior y el incremento más rápido a lo largo de los días en comparación con las Activas. Estas diferencias globales se confirmaron en cada uno de los grupos neonatales S, H y NH,  $p < .05$ .

#### 2.4.2. Hembras

En el caso de las hembras, un ANOVA factorial aplicado a la ingesta de comida durante las 24 horas previas al Día 0 mostró que no hubo efecto del Tratamiento neonatal sobre la ingesta,  $F(2, 57) = 1.111$ ,  $p = 0.336$ , ni del factor Actividad,  $F(1, 57) = 1.266$ ,  $p = 0.265$ . Tampoco hubo interacción entre ambos

factores,  $F(2, 57) = 0.572$ ,  $p = 0.568$ . De modo que los diferentes grupos experimentales no se diferenciaron en la ingesta previa al inicio del experimento (véase Tabla 17).

	H	S	NH
Activo	19.61 ( $\pm 0.38$ ) g	19.32 ( $\pm 1$ ) g	19.17 ( $\pm 0.08$ ) g
Inactivo	21.75 ( $\pm 0.9$ ) g	20.21 ( $\pm 1.16$ ) g	19.05 ( $\pm 1.4$ ) g

Tabla 17. Ingesta media ( $\pm$  Error Típico) de comida para las hembras durante las 24 horas previas a la fase experimental.

La evolución de la variable ingesta de comida a lo largo de 3 días en las hembras Activas y a lo largo de 9 días en las Inactivas se analizó mediante un ANOVA con medidas repetidas.

La ingesta de comida también se fue incrementando progresivamente para todas las hembras a medida que avanzaba el estudio (véase Figura 21). El factor Tratamiento neonatal no tuvo efecto sobre la ingesta de comida en general para las hembras Activas,  $F(2, 33) = 0.3$ ,  $p = 0.97$  ni para las Inactivas,  $F(2, 33) = 1.568$ ,  $p = 0.224$ , tampoco hubo interacción entre la tendencia de la ingesta a lo largo de los días y los grupos neonatales, siendo  $F(3.951, 65.191) = 0.875$ ,  $p = 0.483$  para las Activas y  $F(11.06, 182.55) = 1.793$ ,  $p = 0.058$  para las Inactivas.

Al igual que para los machos, el factor Actividad tuvo un efecto sobre la ingesta general de los animales,  $F(1, 70) = 4.313$ ,  $p = 0.042$ , siendo superior la ingesta global de las hembras Inactivas en comparación con las Activas, aunque la interacción no resultó significativa,  $F(1.899, 132.905) = 0.082$ ,  $p = 0.913$ .



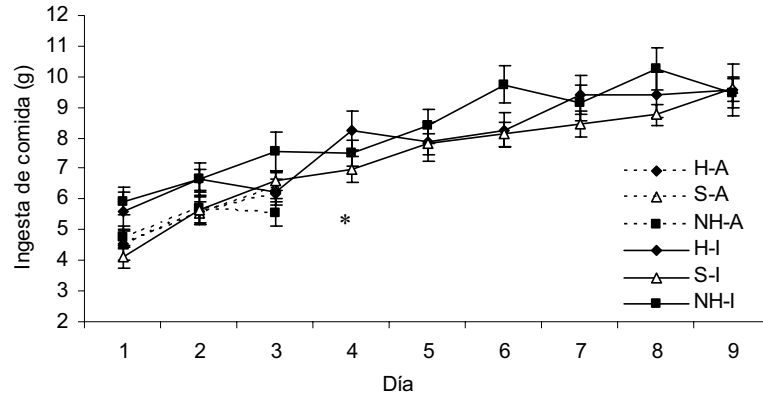


Figura 21. Ingesta media de comida diaria ( $\pm$  Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de hembras hasta el día en que la primera rata es retirada de un grupo ( $n = 12$ ). \* La ingesta global de comida de las ratas Inactivas fue superior a la de las hembras Activas. Estas diferencias globales entre ratas Activas e Inactivas se confirmaron sólo en las ratas NH,  $p < .05$ .

### 3. Discusión

En contra de las predicciones inicialmente formuladas, el Tratamiento neonatal no tuvo grandes repercusiones sobre el desempeño de los machos en el procedimiento ABA, y en el caso de las hembras, las diferencias obtenidas se apartan radicalmente de la hipótesis que planteaba un peor desempeño de las ratas S. De esta manera, los resultados obtenidos en este estudio se apartan del modelo B1 de la Figura 7 ajustándose mejor al modelo B3.

En relación con el efecto del Tratamiento neonatal sobre el peso corporal de los animales antes de iniciar la fase experimental ABA, los resultados sugieren que cualquiera de las dos manipulaciones neonatales realizadas (H y S) produce un incremento en el peso corporal de los animales en comparación con la ausencia de manipulación durante la infancia (NH). Estas diferencias registradas en el día del destete se mantuvieron para los machos en el Día 41, aunque desaparecieron para las hembras en el Día 54.

Estos resultados suponen una primera evidencia en contra del modelo original B1, según el cual la separación materna prolongada, supuesto modelo de cuidado materno deficitario, debería producir una disminución en el peso corporal de los animales en comparación con el *handling*. Los resultados obtenidos en este experimento, al igual que otros estudios (Kalinchev et al., 2002; Slotten et al., 2006), muestran un incremento del peso corporal similar para los grupos H y S, que fue superior al del grupo NH. De este modo, parece que la ausencia de manipulación supone una experiencia más adversa para el crecimiento de las crías que la separación materna prolongada.

Una vez iniciado el procedimiento ABA, el Tratamiento neonatal no tuvo efecto en el desempeño de los machos (pérdida de peso, actividad, ingesta de comida y días para alcanzar el criterio de retirada o recuperación). Únicamente surgieron diferencias entre los grupos en función de la condición de Actividad a la que fueron asignados. Los animales Activos perdieron peso más rápidamente y consumieron menos comida que los animales Inactivos, reflejando el efecto estándar del ejercicio en el peso corporal y la ingesta (Epling & Pierce, 1988, 1991; Epling et al., 1983).

Uno de los resultados más importantes de este estudio fue la mayor resistencia de las hembras S sometidas al procedimiento ABA, en comparación con las ratas NH, y más importante aun es el hecho de que esta mayor supervivencia de las ratas S no se debió a que éstas fueran más pesadas que las NH, ya que en el momento de ser sometidas al ABA el peso de los grupos no difería entre sí. La literatura revisada antes de iniciar la fase experimental nos hizo esperar una mayor pérdida de peso y menor resistencia de las ratas S, tal como se desprende del modelo B1 de la Figura 7 (Caldji et al., 2000; Meaney, 2001a; Plotsky & Meaney, 1993). Sin embargo, los datos obtenidos con las ratas hembra en este experimento se alejan bastante del modelo original, aportando evidencia que sustenta más bien la propuesta alternativa B3 donde los grupos H y S muestran un desempeño superior al del grupo NH que ocupa el extremo más ansioso del espectro. En este caso, los resultados van

incluso más allá del modelo B3, ya que las diferencias más amplias surgen entre los grupo S y NH, mientras que los animales H ocupan un lugar intermedio sin diferenciarse significativamente de ninguno de los otros dos grupos. De este modo, parece que el grupo S es el que mejor resiste las condiciones de restricción de alimentación y acceso a la rueda de actividad. Una posible explicación del fracaso del modelo original para encajar los resultados aquí obtenidos radica en el tipo de pruebas que se han utilizado para estudiar el comportamiento ansioso de los animales. Así, por lo que respecta a la conducta de ansiedad ésta suele estudiarse a partir de la conducta de miedo y de exploración en un contexto novedoso con pruebas del tipo del test de campo abierto, el laberinto en cruz elevado o el test de supresión del apetito inducida por la novedad. Por su parte, las diferencias neuroendocrinas se suelen obtener a partir de situaciones como el estrés por inmovilización. Se trata, pues, en ambos casos, de pruebas de ansiedad moderadas y que suponen una situación de estrés agudo. En nuestro caso, el procedimiento ABA se trata de un estrés de intensidad elevada y de tipo crónico. A día de hoy, se conoce muy poco acerca de la influencia de las experiencias neonatales en la respuesta de las ratas adultas al estrés crónico. Según nuestro conocimiento, existen tan sólo dos estudios, del año 2005, que abordan esta cuestión y cuyos resultados apuntan hacia un mejor desempeño de las ratas S.

En el primer estudio, Ladd, Thirivikraman, Huot & Plotsky (2005) compararon por una parte, la respuesta neuroendocrina en ratas H, S y un grupo de control rutinario ante un estímulo estresante agudo (soplo de aire) lo que reveló una respuesta neuroendocrina moderada para las ratas *handled* frente a las separadas. Por otra parte, los autores evaluaron a otra tanda de animales ante ese mismo estímulo estresante agudo, pero después de que hubiesen estado sometidos a una situación de estrés crónico (14 días de exposición a diferentes estímulos estresantes). Los resultados, inesperados para los propios autores, mostraron que después de haber sufrido un estímulo estresante crónico, la respuesta de estrés disminuía de forma considerable

para el grupo S, desapareciendo así las diferencias entre ambos grupos. Esto parece indicar que el estrés crónico invierte los efectos neuroendocrinos tradicionalmente atribuidos a las separaciones maternas prolongadas.

El segundo estudio que analiza el impacto de las experiencias tempranas bajo condiciones de estrés crónico (Renard, Suárez, Levin & Rivarola, 2005) compara ratas separadas 4.5 horas durante la infancia con ratas NH en el laberinto en cruz elevado. Estos autores encontraron que tanto las hembras S como las NH mostraban un comportamiento menos ansioso (más entradas en los brazos abiertos y más tiempo en ellos) después de haber sido previamente sometidas a 24 días de estrés crónico.

Estos dos estudios sugieren que el tipo de estrés utilizado para evaluar a las ratas adultas puede ser un aspecto decisivo a la hora de demostrar la existencia de un efecto asociado a una manipulación infantil. En concreto, las separaciones maternas de 180 minutos pueden favorecer el desempeño de las ratas adultas bajo condiciones de estrés crónico, tal como se observa en este estudio bajo condiciones de restricción de alimentación y acceso a una rueda de actividad durante 14 días.

Otro resultado significativo tiene que ver con las diferencias en el incremento de la actividad física en las hembras, así pues, las ratas NH fueron las que incrementaron su actividad física en la rueda de forma más rápida, en contra de la hipótesis inicial que sugería una actividad más elevada para el grupo S. Estos resultados apuntan hacia la posibilidad de que el efecto de los diferentes tratamientos neonatales sobre la supervivencia de las ratas no sea tan directo como se sugirió en el primer estudio sino que pueda estar mediado por los niveles de actividad en la rueda. Se sabe que a mayor actividad en la rueda menor es la ingesta de los animales, y por lo tanto mayor es la pérdida de peso corporal (Epling & Pierce, 1991, 1988). De este modo, los animales más activos son los que resisten menos días en el experimento, de ahí que la rapidez con la que incrementaron su actividad diaria las hembras NH pueda ser el factor mediador del efecto del Tratamiento neonatal sobre la resistencia de

las ratas en el procedimiento ABA. En relación a la ingesta de comida, el único efecto detectado estuvo relacionado con la condición de Actividad de los animales, de este modo, la ingesta de los animales Inactivos fue superior a la de los animales Activos.

Aunque el diseño experimental de este segundo estudio no permite extraer conclusiones definitivas acerca del efecto que los diferentes tratamientos neonatales tienen para machos y hembras debido a la diferencia de edad entre unos y otros, la impresión general parece apuntar hacia un efecto diferencial de la separación materna prolongada dependiente del sexo. Los estudios que han incluido hembras en el diseño, generalmente, encuentran que los efectos negativos de la separación materna en la respuesta de estrés en la vida adulta son mucho menos pronunciados o incluso ausentes en las ratas hembra S en comparación con los machos (McIntosh et al., 1999; Renard et al., 2005; von Hoersten, Dimitrijevic, Marcovic & Janovic, 1993; Wigger & Neumann, 1999). En este caso, a igualdad de peso inicial, nos encontramos que la separación materna tiene un efecto protector para las hembras Activas pero no para los machos.

A partir de los resultados obtenidos en este segundo estudio podemos concluir por una parte, que el Tratamiento neonatal no tuvo efecto en el desempeño de los animales más jóvenes sometidos al procedimiento ABA a los 44 días de edad (machos). Por otra parte, a una edad más avanzada (56 días de edad), el procedimiento de separación materna prolongada produce una mayor resistencia al impacto de la actividad sobre la pérdida de peso en comparación con las ratas NH, aspecto que podría estar relacionado con el rápido incremento de la actividad en la rueda por parte de estas últimas (hembras). Así pues, los datos obtenidos con las ratas hembra apoyan la representación propuesta en el modelo B3 de la Figura 7, donde no existen diferencias entre los grupos H y S, quienes ocupan el extremo de menor ansiedad en comparación con el grupo NH. Esto pone seriamente en duda la validez de la separación materna de 180 minutos como modelo de separación

materna adversa al menos cuando los animales son sometidos a una situación de estrés crónico.

## ESTUDIO 3

### **Efecto del *handling*, *no-handling* y separación materna prolongada en la infancia sobre la actividad en ratas con comida ad libitum.**

La decisión tomada en el Estudio 2 de incluir un grupo de ratas separadas 180 minutos durante la infancia tenía como objeto aclarar los resultados obtenidos en el Estudio 1, donde el efecto protector del *handling* había resultado moderado, además de confuso dadas las diferencias iniciales en el peso de ambos grupos. Sin embargo, a pesar de la inclusión de este grupo de ratas separadas, los resultados del segundo estudio mostraron que lejos de aclarar los resultados confusos del primer estudio, la mayor supervivencia de las ratas separadas ponía en entredicho la universalidad del papel protector del *handling*. Tal como se desarrolló en la discusión del segundo estudio, el mejor resultado de las hembras separadas podría estar relacionado con la intensidad y cronicidad del estrés que supone para los animales la simultaneidad de las condiciones de privación de comida y de acceso a la rueda del procedimiento ABA.

Así pues, en este tercer y último estudio nos proponemos estudiar los efectos de los diferentes tratamientos neonatales en condiciones de estrés más moderadas de lo que supone el procedimiento ABA convencional. Así, a diferencia de los dos estudios anteriores, eliminaremos la condición de restricción de comida, de manera que todos los animales, con rueda o sin ella, tendrán acceso a la comida durante las 24 horas del día (ad libitum).

A diferencia de los estudios anteriores, el acceso a la rueda en condiciones de comida ad libitum no puede considerarse un acontecimiento tan estresante para los animales, ya que la actividad en la rueda es un

acontecimiento singular en el laboratorio al que las ratas parecen entregarse como si se tratase de una actividad placentera y/o lúdica (Sherwin, 1998, 1999). Pero el paso de la caja común, en la que los animales han convivido en grupos de cuatro o cinco desde el día del destete hasta el Día 0 del procedimiento ABA, día en el que el animal es alojado en la jaula con la rueda de actividad, supone en sí mismo un cambio en el espacio vital del animal. A pesar de que el acceso a la rueda de actividad en ratas con comida ad libitum no supone ningún riesgo para la supervivencia de las ratas, sí está documentado que la introducción de la rueda afecta de forma negativa a la ingesta. El efecto de la rueda sobre la ingesta es transitorio y a partir del día 8, aproximadamente, estas diferencias desaparecen llegando la ingesta de las ratas activas a superar a la de las inactivas mientras la actividad en la rueda se estabiliza. Esta introducción de la rueda en el ambiente vital de la rata significa una disminución en el peso del animal en comparación con el de sus congéneres que no tienen acceso a la rueda, y esta diferencia en el peso se mantiene a lo largo de 24 e incluso 50 días (Lattanzio & Eikelboom, 2003; Tokuyama, Saito & Okuda, 1982).

Por tanto, pretendemos estudiar si los diferentes tipos de tratamiento neonatal realizados en el Estudio 2 provocan diferencias en la respuesta de adaptación de los animales a este entorno novedoso. Así pues, si las condiciones experimentales de un procedimiento ABA convencional suponen una situación de estrés severa, la introducción a la rueda la consideramos en nuestro estudio como una condición leve de estrés, ya que el afrontamiento de este cambio no es demasiado exigente para los animales. De este modo, frente al procedimiento ABA que habitualmente provoca la retirada de la mayoría de los animales (peso < 75%), tal como ha sucedido en los dos estudios previos, la literatura existente muestra que el acceso a la rueda en condiciones de comida ad libitum es resistido por todos los animales sin que esto suponga una amenaza para su supervivencia, por lo que en este estudio no esperamos tener que retirar a ningún animal.



Esta variante menos exigente del modelo ABA nos permitirá tener una perspectiva más completa del efecto de los diferentes tratamientos neonatales sobre el modelo ABA. De hecho, los grupos Activos e Inactivos con comida ad libitum que estudiaremos en este Estudio 3 pueden considerarse grupos adicionales de control del Estudio 2, tal como se representa en la Figura 22 que sigue a continuación. Por este motivo se pondrá especial atención en seleccionar a los sujetos experimentales de este estudio con un peso inicial (Día 0) similar al del Estudio 2.

		Acceso rueda	Restricción comida
Estudio 2 (H, NH, S)	G1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	G2	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Estudio 3 (H, NH, S)	G1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	G2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Figura 22. Condiciones experimentales utilizadas en los Estudios 2 y 3. Los grupos 1 y 2 del Estudio 3 pueden considerarse grupos de control adicionales del Estudio 2.

Por todo ello, de acuerdo con las conclusiones del Estudio 2, suponemos que el efecto protector del *handling*, en línea con los resultados de la literatura que muestran ese efecto en pruebas de ansiedad moderada, se evidenciará en estas condiciones de estrés mínimo, por lo que esperamos un mejor desempeño para las ratas *handled* (H) en comparación con las ratas *no-handled* (NH) y separadas (S). De acuerdo con esta hipótesis general, se realizan las siguientes predicciones:

- 1- El grupo H se adaptará mejor a la introducción de la rueda, mostrando un menor impacto en la reducción de la ingesta en

comparación con los grupos NH y S. Además, se espera que el grupo H sea el grupo que incremente su ingesta más rápidamente.

- 2- Con respecto a la actividad, y de acuerdo con su aspecto “cuasi-lúdico” en ratas ad libitum, las ratas H mostrarán una mayor actividad exploratoria y como consecuencia un mayor nivel de actividad en la rueda en comparación con los grupos NH y S.
- 3- A pesar de la mayor actividad esperada, pero debido a la mayor ingesta, el incremento del peso del grupo H será superior y más rápido que el grupo NH y S.

También, en línea con los estudios 1 y 2, y de acuerdo con la literatura sobre los efectos de la actividad en los animales mantenidos con comida ad libitum, una segunda hipótesis afirma que:

- 1- Para todos los animales, independientemente del Tratamiento neonatal recibido, el acceso a la rueda de actividad supondrá una reducción inicial y transitoria en la ingesta con respecto a los animales Inactivos.
- 2- Sin embargo, a pesar de la depresión inicial de la ingesta, el acceso ad libitum a la comida facilitará una ingesta superior de los animales con acceso a la rueda de actividad para compensar el ejercicio en la rueda. Se espera que esta mayor ingesta se manifieste durante la segunda semana del estudio.
- 3- De acuerdo con la literatura, a pesar de la mayor ingesta de los animales Activos, el acceso a la rueda de actividad provocará un retraso en el crecimiento de estos animales, que se manifestará en un peso inferior, y en un incremento más moderado, en los grupos Activos en comparación con los Inactivos.

Al igual que en los dos estudios anteriores estas hipótesis se afirman con respecto a machos y hembras.

## **1. Método**

### **1.1. Tratamiento neonatal**

Quince hembras gestantes Sprague-Dawley procedentes del animalario central de la USC, y sus respectivas camadas, fueron asignadas aleatoriamente a las condiciones H, NH y S. Los diferentes tratamientos neonatales fueron idénticos a los descritos en el Estudio 2.

Las camadas oscilaron entre 11 y 15 crías, con la excepción de 2 camadas, de 16 y 17 crías respectivamente, que fueron reducidas a 15 animales en el Día 1 del procedimiento. Al igual que en el Estudio 2, las hembras gestantes fueron encargadas de forma sucesiva en dos tandas ya que el equipamiento experimental no nos permitía la gestión de todas las camadas necesarias para el estudio de forma simultánea. De modo que se manipularon dos tandas de 6 y 9 camadas de cada vez, de las cuales dos y tres de esas camadas, respectivamente, fueron asignadas a cada una de los tres Tratamientos neonatales H, S y NH.

### **1.2. Sujetos**

Para este estudio, seleccionamos 56 machos y 48 hembras por un procedimiento similar al Estudio 2 para lograr que todos los animales fueran similares en peso al estudio anterior. Así, al igual que en el estudio anterior, escogimos 4 animales de cada camada para evitar posibles efectos debidos a la camada. Todos los machos tenían entre 41 y 44 días de edad, 19 machos procedían de camadas H (rango 219-240 g), otros 19 de las camadas S (rango 213-250 g) y los 18 restantes de las camadas NH (rango 221-242). Las hembras fueron evaluadas a los 58-63 días de edad. El rango de edad en este estudio era algo superior al del Estudio 2 (54-59 días) y esto fue debido a que

en esta ocasión las ratas crecieron a un ritmo más lento. Dieciséis de estas hembras procedían de camadas H (rango 205-235 g), otras 16 de las camadas S (rango 204-237 g) y las 16 restantes de las camadas NH (rango 215-235). La composición de los grupos de este estudio se muestra en la Figura 23.

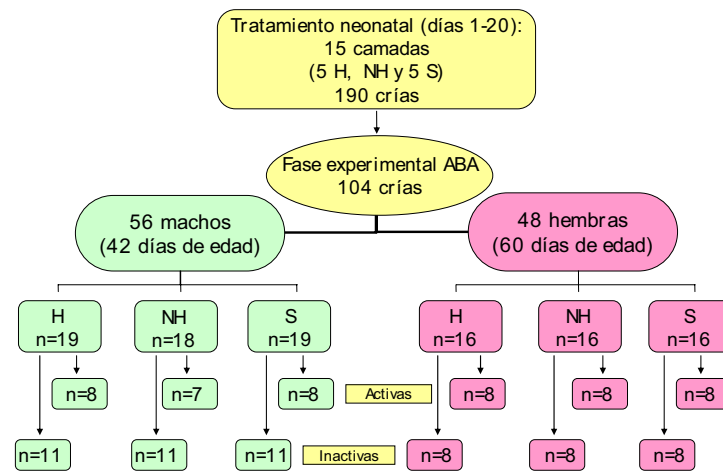


Figura 23. Esquema del procedimiento y composición de la muestra del Estudio 3.

### 1.3. Aparatos

Se utilizaron los mismos aparatos que en el Estudio 2.

### 1.4. Procedimiento

Cuando las camadas se aproximaban a los días en los que se esperaba que las ratas alcanzasen el peso adecuado de entrada en el experimento, los animales fueron pesados a diario al igual que en los otros dos estudios, y se seleccionaron aquellos machos cuyo peso había alcanzado los 230 g en torno a los 42 días de vida, y las hembras que habían alcanzado los 220 g a los 60

días de vida aproximadamente. La selección de los sujetos se realizó de manera que el peso en el Día 0 para los animales de este estudio fuese similar al de los animales del estudio anterior en el mismo día. A continuación los animales fueron trasladados de la sala de estabulación al laboratorio donde se les asignaba a las condiciones de Actividad e Inactividad. La composición de los grupos se realizó mediante una asignación aleatoria por bloques (constituidos por el peso).

Dado que en este estudio las ratas no tienen que enfrentarse a un programa de alimentación restringida, no se expuso a los animales a la fase de pre-exposición a la rueda presente en los Estudios 1 y 2, para no amortiguar el efecto de novedad y el estrés moderado consiguiente al cambio en las condiciones de estabulación (en grupos de cuatro por caja, a la caja individual con rueda de actividad). Las ratas asignadas a la condición de Actividad fueron alojadas en las cajas adosadas a las ruedas de actividad mientras que las ratas asignadas a la condición de Inactividad permanecieron en cajas individuales. El estudio comienza en el Día 0 con la apertura de las puertas de acceso a la rueda para aquellas ratas Activas a las 1000. Todas las ratas fueron pesadas entre las 1000 y las 1040 horas cada día, a la vez que se registraba el número de vueltas y la ingesta diaria de comida. Aunque no se espera que en este estudio ningún animal tenga que ser retirado, se mantuvieron los mismos criterios de retirada y de recuperación que en el estudio anterior.

La duración del estudio se estableció en 14 días de acuerdo con la literatura revisada que muestra que es un periodo suficiente para observar el impacto del acceso a la rueda sobre la ingesta y el peso, y la estabilización de los niveles de actividad, así como cualquier diferencia que pudiera surgir en las tasas de recuperación y/o retirada.

### **1.5. Diseño**

Para machos y hembras se utilizó un diseño factorial 3 x 2: un factor fue el Tratamiento neonatal que recibieron durante la infancia – H, S o NH – y el otro

factor fue el acceso, o no acceso, a la rueda de actividad – Activo vs. Inactivo – (véanse Figura 23 y Tabla 18). Por la misma razón que en los Estudios 1 y 2, es decir, las diferencias en la ganancia de peso entre machos y hembras, el diseño no contempla el sexo como uno de los factores. Por esta misma razón, los machos fueron evaluados primero y las hembras después. A diferencia de los dos estudios anteriores, todos los animales tuvieron acceso a la comida las 24 horas del día, con lo cual, la única diferencia que enfrentaba a los animales en este estudio era el acceso o no a la rueda de actividad.

	Acceso a la rueda	Sin acceso a la rueda
<i>Handling</i>	H-A	H-I
Separación	S-A	S-I
<i>No-handling</i>	NH-A	NH-I

Tabla 18. Diseño del Estudio 3. Abreviaturas: H = *Handled*; S= Separada; NH = *No-handled*; A= Activo, grupo experimental con acceso a la rueda; I=Inactivo, grupo de control sin acceso a la rueda.

## 1.6. Análisis estadístico

Se emplearon los mismos análisis que se han empleado a lo largo de los estudios 1 y 2.

## 2. Resultados

Al igual que en el estudio anterior se presentarán los resultados para cada una de las variables dependientes (peso, actividad, ingesta y días para alcanzar los criterios de retirada y recuperación) y dentro de cada uno de los apartados se expondrán primero los resultados para los machos y luego los de las hembras. Debido a que los grupos utilizados en este estudio pueden ser considerados como grupos de control adicionales del Estudio 2, se realizarán comparaciones con el estudio anterior, revisando de forma exploratoria el desempeño en conjunto de los animales de los estudios 2 y 3.

## 2.1. Peso corporal

Como ya se ha indicado en el procedimiento, los animales que se emplean en el estudio proceden de camadas que fueron sometidas a diferentes tratamientos hasta el día del destete. En el día del destete, el Tratamiento neonatal no produjo diferencias en el peso de las camadas en el caso de los machos,  $F(2, 72) = 1.312$ ,  $p = 0.276$ . Veinte días más tarde, antes de seleccionar a los animales que van a participar en el estudio, a los 41 días de edad, tampoco se produjeron diferencias entre los diferentes grupos neonatales,  $F(2, 65) = 1.801$ ,  $p = 0.173$ , tal como se muestra en la Figura 24.

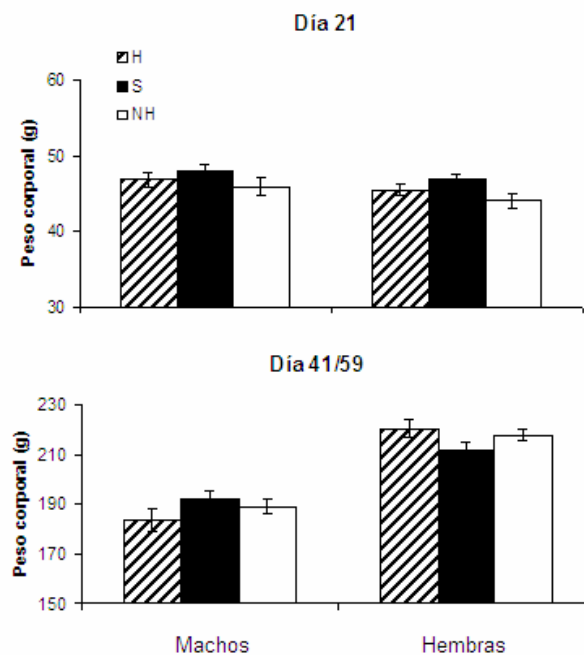


Figura 24. Peso corporal de todos los animales en el Día 21 de edad y antes de iniciar el procedimiento experimental (Días 41 y 59 de edad para los machos y las hembras respectivamente).

En el caso de las hembras, el ANOVA de un factor para el peso corporal el día del destete estuvo muy próximo a la significación,  $F(2, 83) = 3.002$ ,  $p =$

0.055. Las comparaciones a posteriori (Games-Howell) revelaron que la comparación que más se acercaba a la significación era  $p = 0.058$ , indicando un peso superior para las ratas S en comparación con las NH. Sin embargo, estas diferencias desaparecieron en el Día 58,  $F(2, 80) = 2.067$ ,  $p = 0.133$ .

### 2.1.1. Machos

Una vez seleccionados los animales que iban a participar en el estudio, y desechado el resto de la camada, no hubo ninguna diferencia en el peso inicial (Día 0) de los grupos, ni en función de la condición de actividad,  $F(1, 50) = 0.299$ ,  $p = 0.86$ , ni en función del Tratamiento neonatal recibido,  $F(2, 50) = 5.11$ ,  $p = 0.6$  (véase el peso medio inicial de los grupos en la Tabla 19).

	H	S	NH
Activo	231.75 ( $\pm 1.66$ ) g	228.38 ( $\pm 2.5$ ) g	229.57 ( $\pm 2.06$ ) g
Inactivo	229 ( $\pm 2.36$ ) g	227.09 ( $\pm 3.83$ ) g	229.91 ( $\pm 2.17$ ) g

Tabla 19. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) de los machos ad libitum el Día 0 de la fase experimental.

Para analizar la variable peso corporal a lo largo de 14 días se aplicó un ANOVA con medidas repetidas. El peso de todos los machos se incrementó significativamente a lo largo de los días, tal como se muestra en la Figura 25. El Tratamiento neonatal no tuvo efecto en la tendencia del peso de los machos Activos,  $F(3.6, 32.6) = 0.590$ ,  $p = 0.657$ , ni de los machos Inactivos,  $F(3.6, 53.87) = 2.683$ ,  $p = 0.085$ . No se detectó ningún efecto principal que implicase a los tres Tratamientos neonatales, de modo que tampoco surgieron diferencias el peso medio global de los diferentes grupos neonatales. Si realizamos estos mismos análisis para los machos Inactivos durante la segunda semana (días 8-14), que es cuando parece haber un distanciamiento mayor entre el peso del grupo S y los otros dos grupos, los análisis revelan un efecto principal que se



acerca a la significación,  $F(2, 30) = 2.778$ ,  $p = 0.078$ , siendo la comparación post hoc que más se acerca a la significación la referida a la comparación entre los grupos H y S, (peso medio 146.02 g vs. 142.1 g respectivamente,  $p = 0.09$ ).

Estos resultados, aun careciendo de un nivel de significación adecuado, irían en la dirección señalada por la primera hipótesis que afirmaba que el peso del grupo H sería superior al grupo S, sin embargo la hipótesis tiene que ser rechazada con respecto a la predicción de un mayor peso de los animales H con respecto a los NH (peso medio 146.02 vs. 145.6 g, respectivamente;  $p = 0.972$ ).

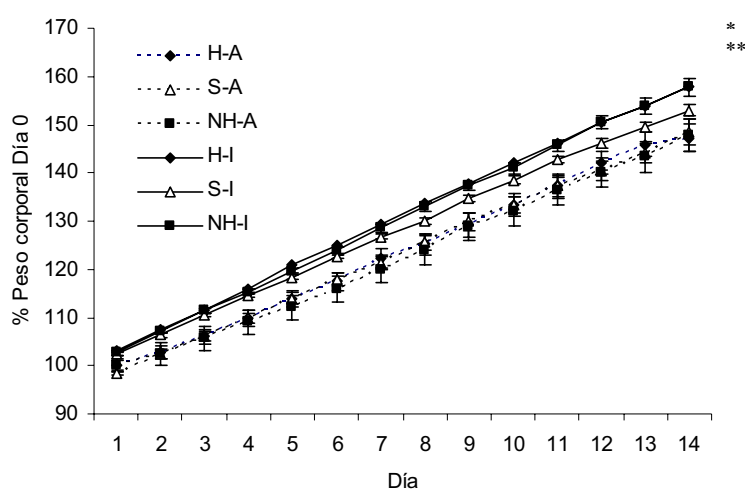


Figura 25. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) relativo al peso en Día 0 para los machos durante 14 días, ya que no se retiró ninguna rata antes de finalizar el experimento ( $n = 8$  para los grupos Activos, excepto NH donde  $n = 7$ ;  $n = 11$  para los grupos Inactivos). \* El peso corporal de las ratas H, S y NH Inactivas fue superior al de sus congéneres Activas,  $p < .01$ . \*\* El grupo NH-I incrementó su peso más rápidamente que su homólogo Activo.

La condición de actividad tuvo un efecto claro y significativo. Todos los animales, independiente de los tratamientos neonatales recibidos, que tuvieron acceso a la rueda de actividad ganaron menos peso que los que no tuvieron

acceso a la rueda (**H**,  $F(1, 17) = 11.531$ ,  $p = 0.003$ ; **NH**,  $F(1, 16) = 13.761$ ,  $p = 0.002$ ; y **S**,  $F(1, 17) = 15.254$ ,  $p = 0.0013$ ). Además del mayor peso medio de todos los animales Inactivos, en el caso concreto de los animales NH, la tendencia del incremento de peso también fue más rápida,  $F(1.67, 26.7) = 5.314$ ,  $p = 0.015$ .

Con el objeto de mostrar más claramente el efecto que la condición actividad tiene sobre el peso de los animales, en la Figura 26 se muestra el peso diario para los grupos Activo e Inactivo independientemente del tratamiento neonatal recibido. Tal como se observa en esta Figura, considerados globalmente los animales Inactivos ganaron más peso que los Activos, siendo esta diferencia claramente significativa,  $F(1, 52) = 39.925$ ,  $p = 0.000$ , y además lo hicieron con una mayor progresión, tal como muestra la interacción entre el peso corporal y la condición de actividad,  $F(1.8, 96.63) = 6.059$ ,  $p = 0.004$ , confirmándose la predicción desde la segunda hipótesis.

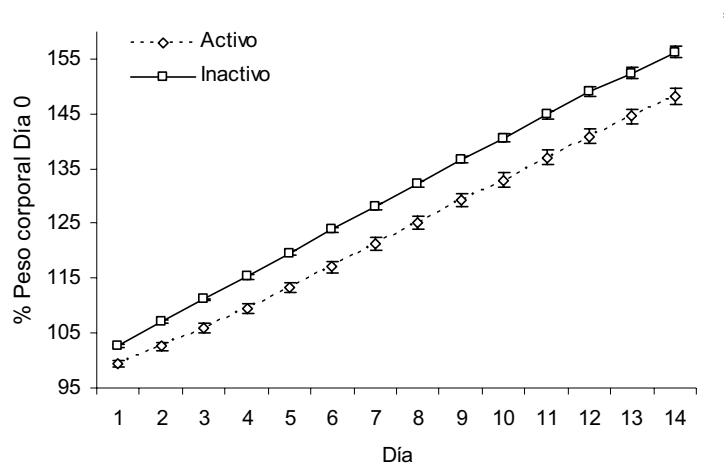


Figura 26. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) relativo al peso en Día 0 para los machos Activos ( $n = 23$ ) vs. Inactivos ( $n = 33$ ). \* El incremento de peso corporal de las ratas Inactivas fue superior y más rápido que el de las Activas,  $p < .01$ .

Puesto que todos los animales (Activos e Inactivos) fueron incrementando su peso corporal a medida que avanzaba el estudio, y por tanto ningún animal tuvo que ser retirado del estudio, llegando todos los animales a término (Día 14), obviamente no hubo diferencias en cuanto a los días de supervivencia. Tampoco se produjeron diferencias en el tiempo de recuperación, habiéndose alcanzado el criterio de recuperación para todos los animales en el Día 5.

### 2.1.2. Hembras

En la Tabla 20 puede verse el peso corporal inicial (Día 0) de las hembras seleccionadas para participar en el estudio una vez que fueron asignadas a las condiciones de Actividad e Inactividad. Un ANOVA factorial para los factores Tratamiento neonatal y Actividad mostró que no hubo efectos principales,  $F(2, 42) = 0.985$ ,  $p = 0.382$  y  $F(1, 42) = 2.442$ ,  $p = 0.126$  respectivamente, ni interacción de los factores,  $F(2, 42) = 0.123$ ,  $p = 0.885$ , de modo que los grupos experimentales no se diferenciaron en el peso corporal inicial.

	H	S	NH
Activo	223.75 ( $\pm$ 3.66) g	222.5 ( $\pm$ 3.62) g	226 ( $\pm$ 2.08) g
Inactivo	218 ( $\pm$ 3.05) g	219.88 ( $\pm$ 1.82) g	223.12 ( $\pm$ 1.67) g

Tabla 20. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) de las hembras ad líbitum el Día 0 de la fase experimental.

El peso corporal de todas las hembras se incrementó significativamente a medida que avanzaban los días (véase Figura 27). Al igual que sucedió con los machos, el ANOVA con medidas repetidas a lo largo de los 14 días que duró el estudio no reveló diferencias en la tendencia del peso debidas al tratamiento neonatal en el caso de las hembras Activas,  $F(7.25, 72.5) = 1.37$ ,  $p = 0.229$ , ni de las hembras Inactivas,  $F(8.63, 90.57) = 1.43$ ,  $p = 0.19$ , así como tampoco hubo efecto principal debido al Tratamiento neonatal,  $p > .05$ .

Sin embargo, los análisis realizados para cada uno de los días que duró el estudio, arrojaron diferencias que se acercaron al nivel de significación de .05 ( $p = 0.062$ ,  $p = 0.08$ ,  $p = 0.093$ , y  $p = 0.073$ , respectivamente para los días 1, 4, 9 y 12). Como se aprecia en la Figura 27, estas diferencias se debieron principalmente al peso superior alcanzado en esos días por el grupo H Inactivo. Para los dos primeros días las comparaciones post hoc indicaron un peso superior para el grupo H en comparación con el NH ( $p = 0.05$  y  $p = 0.079$  respectivamente) y en los dos últimos días los análisis sugieren un peso superior para el grupo H en comparación con el grupo S ( $p = 0.064$  y  $p = 0.06$  para los días 9 y 12 respectivamente).

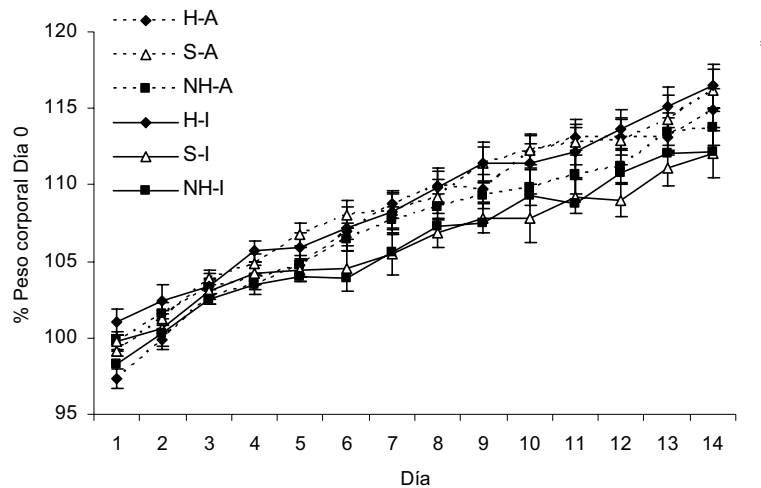


Figura 27. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) relativo al peso en Día 0 para las hembras durante 14 días ( $n = 8$ ). \* El incremento de peso corporal en las ratas Activas fue más rápido que para las Inactivas en los subgrupos H y S,  $p < .05$ .

En el caso de las hembras, el hecho de tener acceso a la rueda de actividad parece que no influyó de forma tan radical sobre el peso, y que las diferencias surgen en la dirección opuesta a lo sucedido con los machos. De este modo, las hembras Activas que habían sido separadas en la infancia (S)

mostraron un peso superior al de las Inactivas S,  $F(1, 14) = 4.771$ ,  $p = 0.046$ . También en dirección opuesta a los machos, con respecto al ritmo de crecimiento, las hembras Activas de los grupos H y S ganaron peso más rápidamente que sus controles Inactivas,  $F(3.8, 53.78) = 2.63$ ,  $p = 0.046$ , y  $F(3.53, 49.44) = 2.642$ ,  $p = 0.038$ , respectivamente.

Esta tendencia de las hembras Activas, a excepción de las NH, de crecer más rápidamente se observa mejor si agrupamos a los animales en función de la condición de Actividad vs. Inactividad, como se hace en la Figura 28. Las hembras Activas incrementaron su peso más rápidamente que las Inactivas,  $F(4, 44) = 9.576$ ,  $p = 0.006$ , aunque no hubo diferencias en el peso medio de ambos grupos, tal como indica la ausencia de efecto principal de la Actividad sobre el peso corporal,  $F(1, 45) = 1.723$ ,  $p = 0.196$ . Estos resultados van en dirección opuesta a la predicción realizada desde la segunda hipótesis a tal respecto, que planteaba un peso inferior para el grupo con acceso a la rueda de actividad.

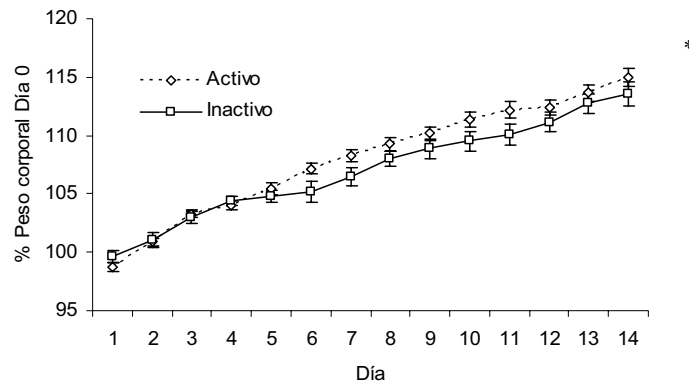


Figura 28. Peso corporal medio ( $\pm$  Error Típico) relativo al peso en Día 0 para las hembras Activas ( $n = 24$ ) vs. Inactivas ( $n = 24$ ). \* El incremento de peso corporal de las ratas Activas fue más rápido que el de las Inactivas,  $p < .01$ .

Al igual que sucedió con los machos ad líbitum, en este estudio se produjo un incremento de peso para todas las hembras, que resistieron sin mayor dificultad los 14 días del procedimiento. De este modo, no hubo diferencias en los días de supervivencia de los diferentes grupos experimentales. Tampoco se produjeron diferencias en el tiempo de recuperación, habiéndose alcanzado el criterio de recuperación para todas las hembras el Día 5 (excepto una hembra NH que lo alcanzó el Día 7).

## 2.2. Actividad en la rueda

### 2.2.1. Machos

Un ANOVA con medidas repetidas aplicado a lo largo de los días indicó que no hubo efectos del Tratamiento neonatal sobre la actividad media en general,  $F(2, 18) = 0.034$ ,  $p = 0.966$ , ni interacciones significativas entre grupo neonatal y tendencia de la actividad a lo largo del tiempo,  $F(3.87, 34.82) = 0.356$ ,  $p = 0.832$ .

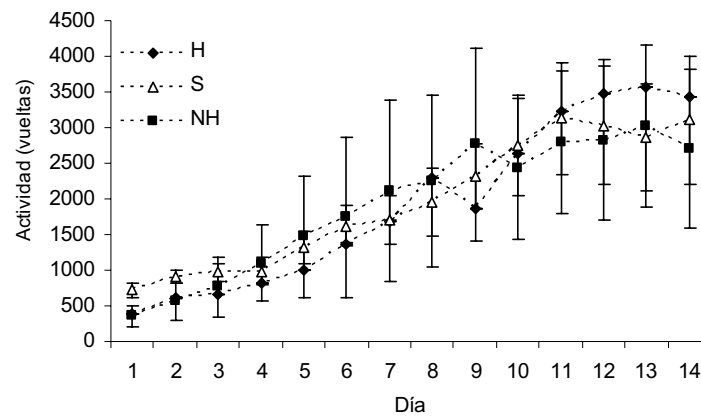


Figura 29. Actividad media diaria ( $\pm$  Error Típico) de cada uno de los grupos neonatales de machos con acceso a la rueda de actividad.

### 2.2.2. Hembras

Tal como muestra un ANOVA con medidas repetidas durante los 14 días que duró el estudio, el Tratamiento neonatal no tuvo efecto en la actividad general,  $F(2, 21) = 0.36$ ,  $p = 0.7$ , ni tampoco hubo diferencias en la tendencia de los grupos a lo largo de los días,  $F(8.234, 86.45) = 1.414$ ,  $p = 0.2$ . Estos mismos análisis realizados para la segunda semana del estudio (días 8-14), donde la media de las vueltas diarias del grupo H parece despegarse de los grupos S y NH, aun cuando no alcanzan la significación sí sugieren un incremento de la actividad más acelerado para el grupo H,  $F(6.94, 72.9) = 1.921$ ,  $p = 0.079$ , (véase Figura 30). Los análisis post hoc para el único día en que un ANOVA de un factor resultó significativo,  $F(2, 21) = 4.15$ ,  $p = 0.03$ , revelaron una actividad media superior del grupo H en comparación con el grupo NH,  $p = 0.04$ , y próximo a la significación con el grupo S,  $p = 0.07$ . Estos resultados apuntan en la dirección de la predicción desde la primera hipótesis según la cual la actividad en la rueda sería superior para el grupo H.

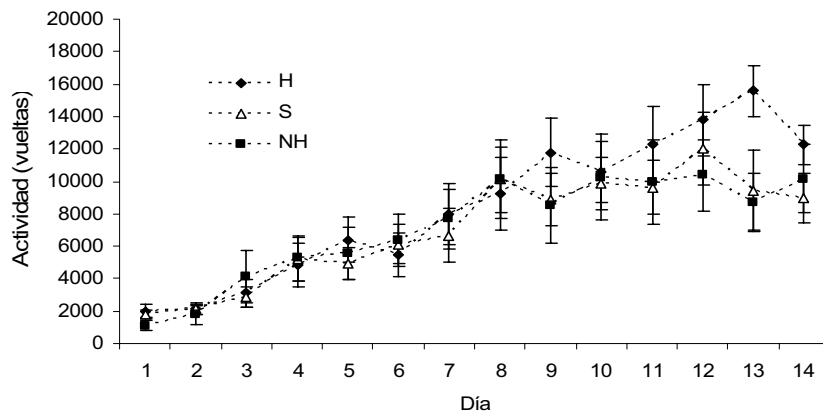


Figura 30. Actividad media diaria ( $\pm$  Error Típico) para cada uno de los grupos neonatales de hembras con acceso a la rueda de actividad.

## 2.3. Ingesta de comida

### 2.3.1. Machos

En la Figura 31 se muestra como la ingesta de comida se incrementó progresivamente para todos los animales a medida que avanzaba el estudio. El Tratamiento neonatal no tuvo efecto sobre la ingesta de comida global de los machos que tuvieron acceso a la rueda de actividad,  $F(2, 18) = 0.314$ ,  $p = 0.734$ , ni de los machos Inactivos,  $F(2, 30) = 1.029$ ,  $p = 0.370$ . Tampoco hubo interacción entre la tendencia en la ingesta a lo largo de los días y los Tratamientos neonatales para el grupo Activo  $F(8.85, 79.65) = 1.484$ ,  $p = 0.169$ , e Inactivo,  $F(15.36, 230.44) = 0.673$ ,  $p = 0.673$ .

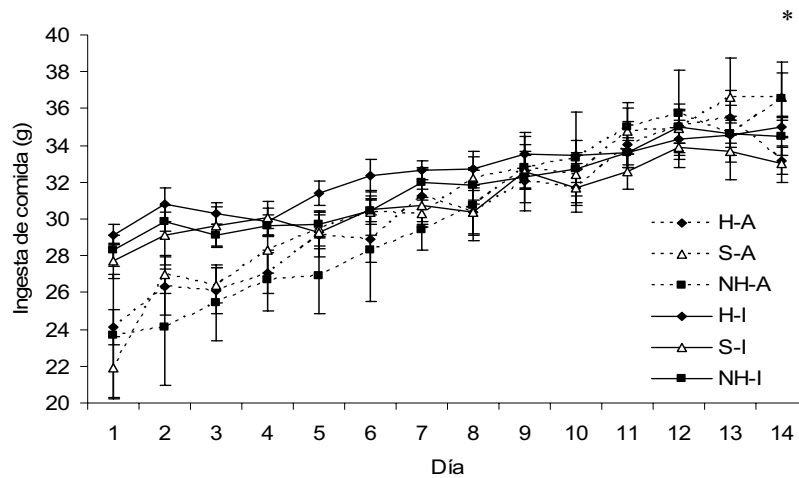


Figura 31. Ingesta media de comida ( $\pm$  Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de machos ad libitum hasta el día 14 ( $n = 8$  para los grupos Activos, excepto NH donde  $n = 7$ ;  $n = 11$  para los grupos Inactivos). \* Cada uno de los grupos neonatales S, H y NH con acceso a la rueda incrementó su ingesta de forma más rápida que sus homólogos Inactivos,  $p < .01$ .

La única diferencia significativa en la ingesta se produjo con respecto a la condición de Actividad, de manera que el acceso a la rueda de actividad



impactó negativamente a la ingesta de los tres grupos neonatales, reduciendo la cantidad de comida ingerida durante los primeros días. Sin embargo, teniendo en cuenta el patrón de la ingesta durante los 14 días, se observa que el incremento de la ingesta para los animales H, NH y S que tuvieron acceso a la rueda de actividad fue más rápido que para los que no tuvieron acceso a la rueda (H,  $F(7.04, 104.2) = 4.628, p = 0.000$ ; NH,  $F(3.66, 58.56) = 4.061, p = 0.007$ ; y S,  $F(6.5, 111.08) = 6.713, p = 0.000$ ), sin que este patrón fuese acompañado de diferencias en la ingesta media de los diferentes grupos neonatales ( $p > .05$ ).

Con el objeto de mostrar más claramente el efecto que la actividad tiene sobre la ingesta de los animales, en la Figura 32 se muestra la ingesta diaria para los grupos Activo e Inactivo independientemente del Tratamiento neonatal recibido. Así pues, con respecto a la ingesta de los animales durante los 14 días que duró el estudio, los análisis revelan que ésta se incrementó más rápidamente en los machos Activos que en los Inactivos,  $F(7.165, 386.91) = 13.306, p = 0.000$ , aunque no hubo diferencias en la ingesta global,  $F(1, 54) = 2.58, p = 0.114$ .

Si analizamos los datos con más detenimiento se observa que durante los primeros 7 días la ingesta de los machos Inactivos fue superior a la de los Activos,  $F(1, 54) = 15.674, p = 0.000$ , aunque los machos Activos incrementaron su ingesta de forma más acelerada,  $F(5.01, 270.79) = 6.184, p = 0.000$ . A partir del Día 8 las diferencias entre la comida consumida por machos Activos e Inactivos desaparecen, y desde el Día 11 en adelante la ingesta media de los machos Activos supera a la de los Inactivos. De este modo, durante los últimos 7 días el ritmo de ingesta sigue siendo más acelerado para los animales Activos,  $F(6, 324) = 3.045, p = 0.007$ , y las diferencias en la ingesta total desaparecen,  $F(1, 54) = 0.513, p = 0.477$ . Estos resultados van en la dirección propuesta por la hipótesis que planteaba una reducción inicial y transitoria de la ingesta, y un incremento más rápido de la ingesta para los animales con acceso a la rueda.

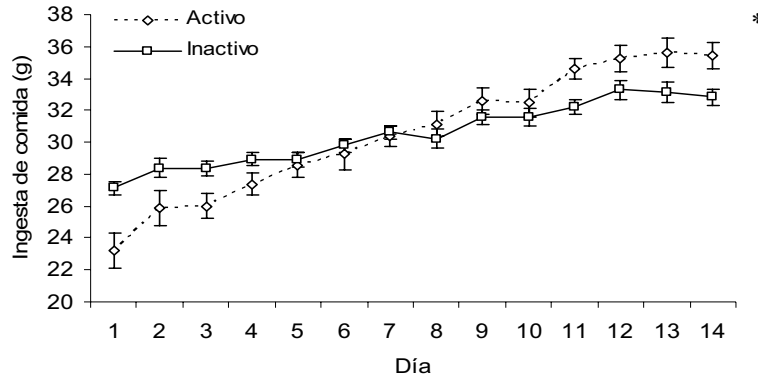


Figura 32. Ingesta media diaria ( $\pm$  Error Típico) para los machos ad libitum Activos ( $n = 23$ ) e Inactivos ( $n = 33$ ) hasta el día 14. \* La ingesta de comida de las ratas Activas se incrementó de forma más rápida,  $p < .01$ .

### 2.3.2. Hembras

También para las hembras la ingesta de comida fue incrementándose progresivamente según avanzaban los días, pero en este caso, el Tratamiento neonatal tuvo un efecto significativo sobre la tendencia de la ingesta de comida en las hembras Activas,  $F(12.5, 131.22) = 1.992$ ,  $p = 0.028$ . Tal como se representa en la Figura 33, las ratas H Activas fueron las que incrementaron la ingesta de forma más rápida en comparación con las ratas NH y S, ambas  $p < .05$ ; en cambio no hubo diferencias en la ingesta global,  $F(2, 21) = 0.623$ ,  $p = 0.546$ .

El Tratamiento neonatal no tuvo efecto en la tendencia de la ingesta de las hembras H, NH y S Inactivas,  $F(11.07, 116.23) = 0.49$ ,  $p = 0.907$ , ni en la ingesta global de los grupos neonatales,  $F(2, 21) = 1.729$ ,  $p = 0.202$ . Estos resultados también se acomodan a las predicciones de la segunda hipótesis que señalaba que los animales H se adaptarían mejor a la introducción de la rueda incrementando más rápidamente su ingesta de comida.

Con respecto al factor Actividad, la ingesta global de las hembras Activas fue superior a la de las Inactivas,  $F(1, 14) = 7.874$ ,  $p = 0.014$ . Además, la

interacción también resultó significativa,  $F(7.82, 359.53) = 22.356$ ,  $p = 0.000$ , indicando un incremento de la ingesta más rápido para las hembras que tuvieron acceso a la rueda de actividad. Estas diferencias en ingesta media y tendencia a lo largo de los días entre los animales Activos e Inactivos se confirmó para cada uno de los grupos neonatales H, NH y S,  $p < .01$ .

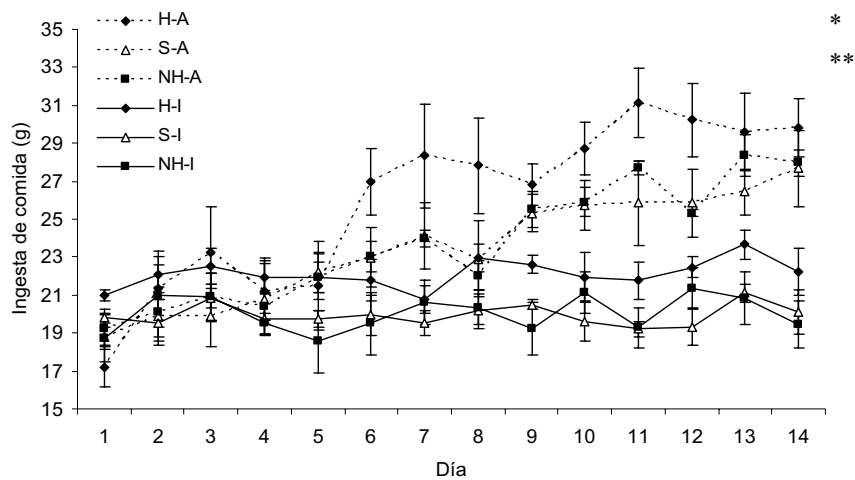


Figura 33. Ingesta media de comida diaria ( $\pm$  Error Típico) para cada uno de los grupos experimentales de las hembras durante 14 días ( $n = 8$ ). \* La ingesta de comida de las hembras H se incrementó más rápido que la de las hembras NH y S,  $p < .05$ . \*\* La ingesta de cada uno de los grupos neonatales H, NH y S Activos fue superior y se incrementó más rápido que la de sus respectivos controles Inactivos,  $p < .01$ .

Este efecto se muestra más nítidamente en la Figura 34 que representa la ingesta de las hembras agrupadas por actividad. En comparación con los machos, el hecho de tener acceso a la rueda de actividad en las hembras no deprimió inicialmente la ingesta, de modo que se rechaza la predicción realizada a este respecto en la segunda hipótesis. A partir del quinto día y hasta el final del estudio, la ingesta de las hembras Activas superó significativamente a la de las Inactivas, tal como también se predijo en la Hipótesis 2.

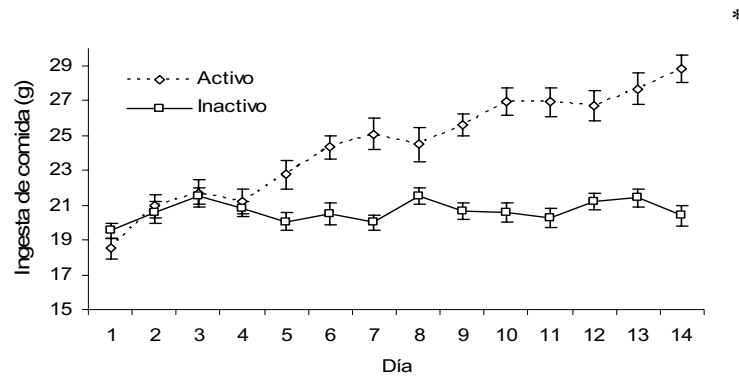


Figura 34. Ingesta media diaria ( $\pm$  Error Típico) para las hembras Activas ( $n = 24$ ) vs. Inactivas ( $n = 24$ ) durante 14 días. \* La ingesta de comida de las ratas Activas fue superior y más rápida que la de sus homólogas Inactivas,  $p < .01$ .

#### 2.4. Panorámica general de los Estudios 2 y 3.

Aunque no era un objetivo intrínseco al diseño de este estudio, como ya argumentamos en la introducción y se mostró en la Figura 22, los grupos de las condiciones Actividad e Inactividad de este estudio pueden ser considerados como dos condiciones más de control al exigente grupo ABA del Estudio 2 (G1, en la nomenclatura de la Figura 22). Así, tomados en conjunto, comparados los resultados de los Estudios 2 y 3, nos permiten tener una visión más completa del impacto que supone para los animales el afrontamiento de las condiciones simultáneas de dieta y actividad en el procedimiento ABA.

Esta comparación es pertinente ya que las condiciones de estabulación y crianza de las camadas fueron llevadas a cabo en el mismo laboratorio, con el mismo equipamiento, por la misma investigadora y de forma consecutiva en el tiempo. Además, como ya mencionamos, se puso especial cuidado en que la edad y el peso inicial de los sujetos experimentales de este estudio fuesen similares a los del Estudio 2. Estas medidas produjeron grupos de animales comparables en peso. Tal como se puede ver en la Tabla 21 no se produjeron diferencias significativas entre los diferentes grupos neonatales Activos e Inactivos de los Estudios 2 y 3. Sin embargo, el cuidado en la selección de los

animales no evitó que una vez fusionados los diferentes grupos neonatales en función del acceso o no a la rueda de actividad (véase Tabla 22), la condición Inactivos del Estudio 2 estuviera formada por animales 7 gramos de media más pesados que los animales Inactivos del Estudio 3, una diferencia que resultó significativa  $t(67) = 3.006$ ,  $p = 0.004$ .

		Machos		Hembras	
		Activos	Inactivos	Activas	Inactivas
Estudio 2	H	229.5 ( $\pm$ 2.86)	235 ( $\pm$ 3.05)	225.75 ( $\pm$ 2.53)	225.91 ( $\pm$ 3.49)
	S	232.25 ( $\pm$ 2.89)	234.75 ( $\pm$ 1.38)	227 ( $\pm$ 3.14)	223.58 ( $\pm$ 5.03)
	NH	227.17 ( $\pm$ 3.27)	235.33 ( $\pm$ 2.89)	223.33 ( $\pm$ 3.46)	224.42 ( $\pm$ 2.97)
Estudio 3	H	231.75 ( $\pm$ 1.66)	229 ( $\pm$ 2.36)	223.75 ( $\pm$ 3.66)	218 ( $\pm$ 3.05)
	S	228.38 ( $\pm$ 2.5)	227.09 ( $\pm$ 3.83)	222.5 ( $\pm$ 3.62)	219.88 ( $\pm$ 1.82)
	NH	229.57 ( $\pm$ 2.06)	229.91 ( $\pm$ 2.17)	226 ( $\pm$ 2.08)	223.12 ( $\pm$ 1.67)

Tabla 21. Peso medio en gramos ( $\pm$  Error Típico) de machos y hembras H, NH y S en el Día 0 para los Estudios 2 y 3.

		Machos		Hembras	
		Activos	Inactivos	Activas	Inactivas
<b>Estudio 2</b>		229.63 ( $\pm$ 1.65) g	*235.03 ( $\pm$ 1.37) g	225.36 ( $\pm$ 1.69) g	223.94 ( $\pm$ 2.21) g
<b>Estudio 3</b>		229.91 ( $\pm$ 1.2) g	228.67 ( $\pm$ 1.63) g	224.08 ( $\pm$ 1.79) g	220.54 ( $\pm$ 1.31) g

Tabla 22. Peso medio ( $\pm$  Error Típico) de machos y hembras en el Día 0 para los Estudios 2 y 3. \* Peso superior al de los machos Inactivos del Estudio 3,  $p < 0.01$ .

En las figuras que se presentan a continuación, se muestra la evolución del peso, la actividad y la ingesta diaria de machos y hembras en los Estudios 2 (en color rojo) y 3 (en color negro), con el objetivo de facilitar una visión conjunta de los resultados obtenidos en ambos estudios.

En primer lugar, con respecto al peso de los animales, en la Figura 35 se pueden apreciar nítidamente las diferencias en el ritmo de crecimiento de los machos y hembras ad libitum que no tienen acceso a la rueda de actividad.

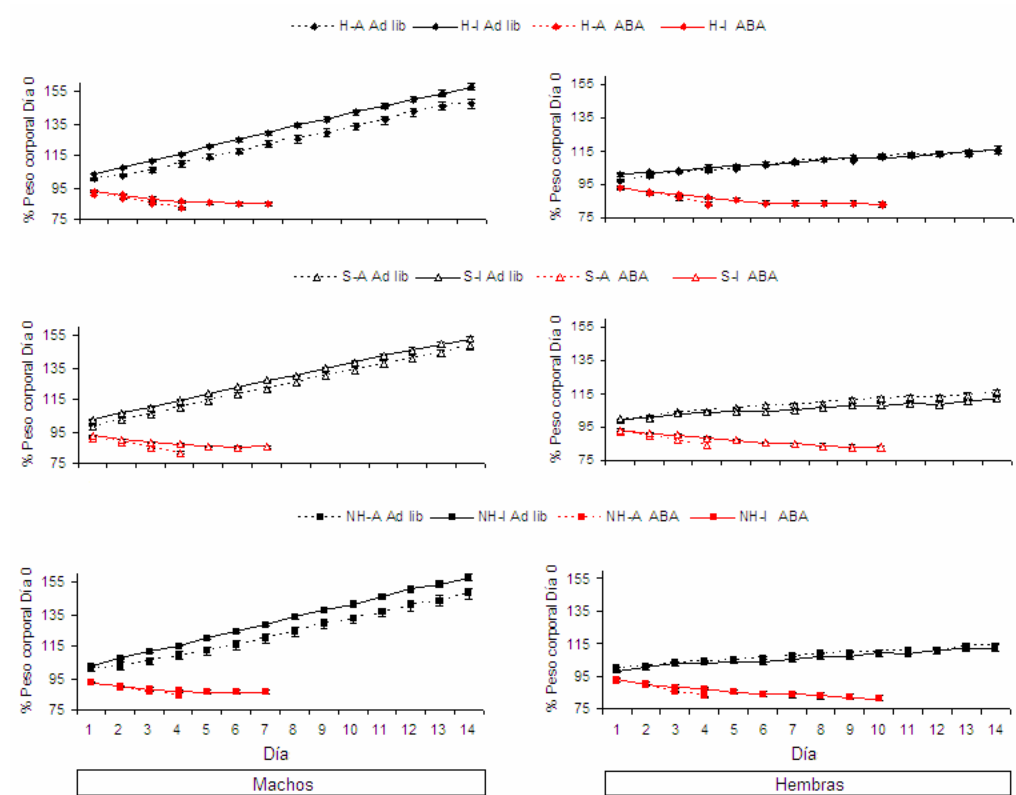


Figura 35. Evolución del peso medio diario ( $\pm$  Error Típico) para machos y hembras H, NH y S en los Estudios 2 y 3. Ad lib = comida 24 horas (Estudio 3); ABA = comida 1.5 horas (Estudio 2).

Consideramos que el crecimiento de estas ratas alimentadas ad libitum y sin acceso a la rueda de actividad proporciona datos normativos acerca del ritmo de crecimiento de las ratas en el laboratorio<sup>41</sup>. Mientras que en estas

41. Además, estos datos concuerdan con el patrón de crecimiento estándar establecido para machos y hembras de la cepa Sprague-Dawley según datos de algunos de los proveedores más importantes de animales para investigación en laboratorio como Harlan o Taconic (Harlan, 2007; Taconic, 2006).

condiciones los machos pueden llegar a crecer hasta un 55% con respecto a su peso inicial en 14 días, las hembras, en cambio, a duras penas alcanzan el 15% de su peso de partida. Siguiendo con los animales ad libitum, y tal como ya se ha comentado en los resultados, en esta Figura se observa claramente el efecto diferencial que supone el acceso a la rueda de actividad sobre el peso de machos y hembras. Esto es, el acceso a la rueda de actividad afecta negativamente al peso de los machos, mientras que en el caso de las hembras bien no afecta al peso, o bien lo hace en la dirección opuesta a los machos, es decir, ¡que la actividad física facilita la ganancia de peso en las hembras!

Veamos ahora, teniendo presente el ritmo de crecimiento estándar de los animales, cómo perder un 25% de peso tiene un significado muy diferente para machos y hembras. Por ejemplo, de acuerdo con los datos del grupo de machos y hembras con comida ad libitum y sin acceso a la rueda de actividad del Estudio 3, la curva de crecimiento normal para los machos en el Día 4 es muy superior a la de las hembras (15% vs. 4% respectivamente). Esto significa que el impacto de la restricción de alimentación y acceso a la rueda de actividad es demoledor sobre todo en el caso de los machos, para los cuales alcanzar el criterio de retirada en el Día 4, esto es perder un 25% de su peso inicial, supone en realidad estar un 40% de peso más bajo con respecto al peso esperable, mientras que en las hembras, esta pérdida ponderal sería de un 29%.

Con respecto a la actividad física de machos y hembras con comida ad libitum, la Figura 36 muestra cómo las hembras incrementaron su actividad física de forma vertiginosa, alcanzando una media de 15000 vueltas diarias en los días finales del procedimiento, mientras que los machos mostraron unos niveles mínimos de actividad a lo largo de todo el Estudio 3, sin superar en ninguna ocasión las 4000 vueltas diarias de media. Tal y como se demostró en el Estudio 2, se sabe que si el acceso a la rueda de actividad se combina con restricción de alimentación, los animales incrementan su actividad de una forma drástica. A este respecto, los datos obtenidos sobre la actividad de los

animales con comida ad libitum resultaron muy útiles para comprender el impacto que tiene la dieta sobre la actividad de machos y hembras, que resultó ser mucho más acusado en los machos. Así, por ejemplo, después de haber estado 3 días sometidos a dieta los machos incrementaron unas cinco veces el nivel de actividad con respecto sus congéneres ad libitum, mientras que las hembras tan sólo lo duplicaron. Este brusco despegue de la actividad en el caso de los machos una vez que se someten a la restricción de alimentación supone un gasto energético muy superior del que se pueden “permitir” para poder mantener a la vez el patrón de crecimiento estándar.

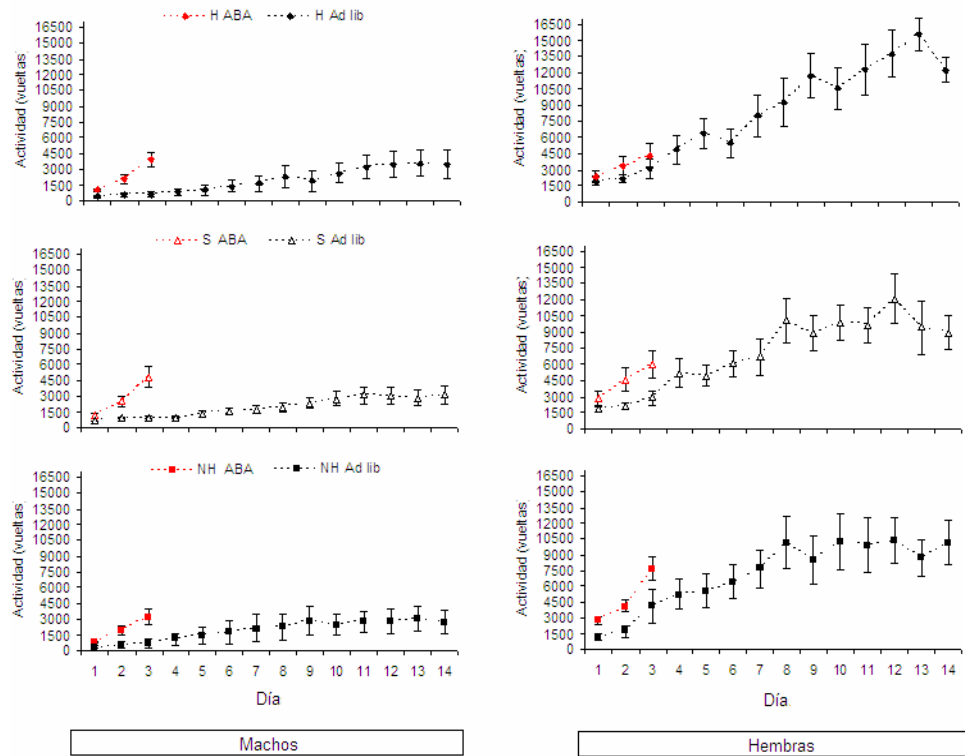


Figura 36. Evolución de la actividad media diaria ( $\pm$  Error Típico) para machos y hembras H, NH y S en los Estudios 2 y 3. Ad lib = comida 24 horas (Estudio 3); ABA = comida 1.5 horas (Estudio 2).



Finalmente, y en relación con la ingesta de comida, en la Figura 37 se puede observar, por una parte, el efecto diferencial que tiene el acceso a la rueda sobre la ingesta de machos y hembras con comida ad líbitum, tal como se detalló en el apartado de los resultados correspondiente a la ingesta; y por otra parte, cómo la ingesta de comida de los machos en condiciones de comida ad líbitum está muy por encima de la ingesta de las hembras en las mismas condiciones.

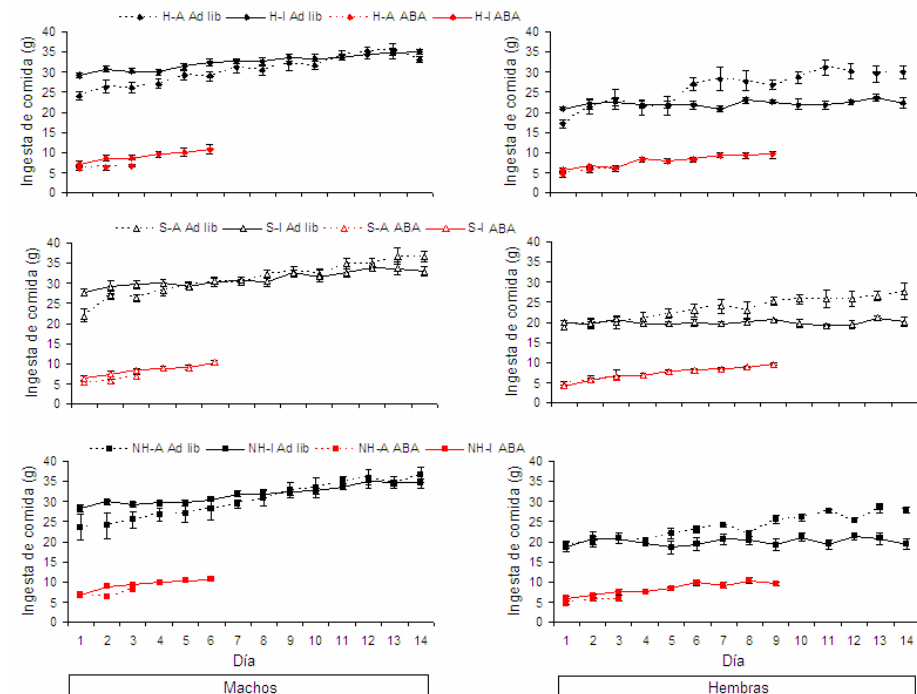


Figura 37. Ingesta de comida media diaria ( $\pm$  Error Típico) para machos y hembras H, NH y S en los Estudios 2 y 3. Ad lib = comida 24 horas (Estudio 3); ABA = comida 1.5 horas, (Estudio 2).

Sin embargo, a pesar de que la ingesta de los machos en condiciones ad líbitum es superior a la de las hembras, una vez que se inicia la restricción de la alimentación la ingesta se ve reducida de forma similar para machos y

hembras. Esto supone una reducción de la ingesta más drástica en el caso de los machos que tienen más dificultades que las hembras para incrementar su ingesta al ritmo que les correspondería en condiciones ad libitum. Así, tres días después de haberse iniciado el Estudio 2, los machos comen un 27% de lo que comen sus congéneres Inactivos del Estudio 3 en condiciones ad lib, mientras que la ingesta de las hembras está en un 29%.

### 3. Discusión

En este tercer estudio caracterizado por un nivel de estrés más leve que los anteriores estudios, al anular la restricción de acceso a la comida del procedimiento ABA, se observó una mejor recuperación de la ingesta de las hembras H con acceso a la rueda de actividad. También, aunque sin alcanzar el nivel de significación de .05, el *handling* favoreció un incremento más rápido de la actividad en la rueda en las hembras y la ganancia de peso en los machos y hembras Inactivos.

Por lo tanto, parece que el *handling* es un tratamiento protector sólo en aquellos casos en los que los animales son testados en pruebas que suponen un monto de estrés leve o moderado, tal como se demostró en pruebas como el test de campo abierto o el laberinto en cruz elevado (Caldji et al., 2000; Kalinchev et al., 2002). En estas situaciones poco exigentes los tratamientos S y NH se sitúan en el extremo opuesto al *handling*, tal como correspondería al modelo B2 de la Figura 7. Un apoyo a esta interpretación podemos encontrarla en la mayor ganancia de peso de machos y hembras del grupo H que no fueron expuestos a la rueda, para los cuales el *handling* parece que facilitó la adaptación al cambio en las condiciones de alojamiento del estabulario a la sala experimental (pasar de alojamiento en grupo a individual).

Sin embargo, tal como se ha mostrado en el Estudio 2, cuando los animales son sometidos a la combinación de dieta y acceso a la rueda de actividad, el *handling* no sólo no amortigua las consecuencias nefastas del

procedimiento ABA, sino que las ratas resultan beneficiadas de haber recibido un tratamiento neonatal de separación materna prolongada supuestamente adverso. De este modo, parece que la función protectora del *handling* se ve limitada a aquellas situaciones de estrés moderado que no atentan contra la propia supervivencia de los animales, mientras que aquellos animales que han sido expuestos a separaciones prolongadas durante la infancia son los que mejor resisten bajo condiciones más extremas.

Además, en este estudio, el sexo se ha revelado como un factor crucial a la hora de entender el desempeño de los animales con acceso a una rueda de actividad, tanto si esta condición se acompaña, o no, con la restricción de comida. En general, los resultados para los animales con acceso a la comida ad libitum muestran que el acceso a la rueda perjudica a los machos, pero no a las hembras cuya ingesta y peso corporal se ven beneficiados a pesar de que estas últimas mostraron unos niveles de actividad muy superiores. Esta respuesta diferente de machos y hembras ante la introducción de la rueda se comprende de una forma más cabal cuando se tiene en cuenta el patrón de crecimiento e ingesta para ambos sexos en animales no manipulados experimentalmente. Puesto que en condiciones estándar los machos crecen a un ritmo desproporcionadamente más rápido que las hembras (aproximadamente un 40% más en 14 días) el acceso a una rueda, supone una amenaza al crecimiento particularmente grave en el caso de los machos. Y también, siempre con respecto con el patrón de crecimiento estándar de los animales, el procedimiento ABA supone un impacto mucho más acusado para los machos. Esto es, perder en cuatro o cinco días un 25% de peso para los machos (Estudio 2) significa una desviación del orden del 40% con respecto a la curva de crecimiento de la especie, mientras que para las hembras la desviación no llega ni al 30%. Y esta desviación es tanto más acusada cuanto más dura la supervivencia del animal en el entorno ABA. Por ejemplo, un macho que alcanza el criterio del 25% de pérdida de peso en el Día 8 estaría un 60% de peso por debajo de lo que pesaría un animal de sus características.

En cambio, en las hembras esta horquilla de 8 días significaría una desviación del 35%, es decir un 25% menos que en el caso de los machos.

A esto habría que añadir el hecho de que machos y hembras en condiciones ABA ingieren una cantidad similar de comida a pesar de que los machos “deberían” de estar creciendo a un ritmo más rápido que las hembras (tal como se aprecia en la ingesta superior a las hembras en condiciones ad líbitum en la Figura 37). Esto muestra que la ingesta de los machos en el procedimiento ABA es a todas luces insuficiente para compensar el ejercicio y el crecimiento normal de los animales, de ahí que este procedimiento sea desastroso para los machos. Así, se puede entender también que con una ingesta parecida las ratas hembra puedan sostener niveles de actividad mucho más elevados que los machos. Estas diferencias en la ganancia de peso y la ingesta relativas al sexo de los animales observadas en el Estudio 3 han sido constatadas por otros autores, que destacan las diferencias sexuales en la proporción de tejido magro y adiposo como factor que contribuye al menor impacto que la rueda de actividad tiene sobre las hembras (Cortright, Chandler, Lemon & DiCarlo, 1997; Dixon et al., 2003).

Además de estas diferencias mencionadas con respecto al impacto de la actividad dependiendo del sexo de los animales, el análisis exploratorio realizado comparando los resultados de los animales de los Estudios 2 y 3 muestra claramente el efecto de interacción entre dieta y ejercicio. Y es que mientras que en condiciones ad líbitum la tendencia natural de los animales Activos es a incrementar más su ingesta (hembras), y a hacerlo de forma más rápida (machos y hembras), que los animales Inactivos, cuando se restringe el tiempo de acceso a la comida, el exceso de actividad no sólo no se compensa con una mayor ingesta, sino que la disminuye.

**DISCUSIÓN GENERAL Y LÍNEAS FUTURAS DE  
INVESTIGACIÓN**



## 1. DISCUSIÓN GENERAL

Este trabajo se inició con el objetivo de explorar el efecto protector del *handling* en el modelo animal de anorexia por actividad, y este fue el acercamiento elegido, ciertamente reduccionista, a un tema más amplio como era la relación entre la experiencia de apego y la anorexia nerviosa en humanos. Sin embargo, el reduccionismo que implica la utilización de modelos animales nunca, en ningún momento, ha supuesto que la rata sea considerada como una persona en miniatura.

Después de los tres estudios presentados en la parte experimental, ¿qué podemos decir con respecto al efecto protector del *handling* y el supuesto efecto nocivo de la separación materna durante la infancia de las ratas a tenor de su desempeño en el procedimiento ABA?

En primer lugar, lejos de demostrar que el *handling* tiene un papel protector nos encontramos con algunos resultados inesperados. Por una parte, el grupo neonatal que ha resultado más perjudicado a lo largo de los tres estudios ha sido el grupo NH, tanto en el peso, inferior al de las camadas H y S en el día del destete y en ocasiones en la vida adulta, como en el desempeño en el procedimiento ABA. Es importante tener presente que estos resultados negativos para el grupo NH en el procedimiento ABA surgieron a pesar de que a partir del Estudio 2 se escogieron a los animales NH más pesados de cada camada, con el objetivo de garantizar que el peso de todos los sujetos experimentales fuese similar en el momento de iniciar el estudio. Esto nos hace suponer que de no haber equilibrado el peso inicial de los tres grupos neonatales, el desempeño de los animales NH en comparación con los grupos H y S habría sido absolutamente desastroso, puesto que, como ya se ha mencionado en repetidas ocasiones, a menor peso inicial peor es el desempeño de los animales bajo condiciones de restricción de alimentación y acceso a la rueda de actividad.

Este peor desempeño del grupo NH estaría conectado con la idea inicialmente propuesta por Levine (1975) de que la estimulación durante la infancia es necesaria para un desarrollo óptimo, y que la exposición a dosis moderadas de estrés resulta en una mayor capacidad de adaptación a futuras situaciones estresantes. Así pues, además del estrés que conlleva la separación materna en sí, las crías sometidas a los procedimientos de *handling* y de separación materna prolongada también reciben una cierta cantidad de estimulación -por parte del investigador que las manipula y por parte de la madre cuando las recupera- en comparación con la ausencia de estimulación y de estrés que caracteriza al grupo NH.

El segundo resultado más sorprendente, en el contexto de los planteamientos iniciales, ha sido el efecto “beneficioso” de la separación materna en el Estudio 2, teniendo en cuenta que con la separación de 180 minutos se trataba de reproducir unas condiciones supuestamente desfavorables para las crías. Contrariamente a lo planteado por la hipótesis (y a la teoría más comúnmente aceptada) este modelo de separación materna no tuvo las consecuencias nefastas previstas para las ratas sometidas al procedimiento ABA, sino que en el caso de las hembras, incluso llegó a protegerlas. Por tanto, a partir de los resultados obtenidos en esta tesis, no se puede sostener el uso de la separación materna de 180 minutos como modelo de separación materna adversa, sino que, al menos en lo que concierne a una situación tan estresante y exigente como el procedimiento ABA, ¡se trataría más bien de un modelo de resiliencia! De esta manera, este modelo de separación materna podría ser útil para analizar aquellas condiciones en las que, a pesar de haber sufrido experiencias tempranas adversas, el funcionamiento de los animales es bueno (Marmendal, 2005).

Así, los resultados de los dos primeros estudios, nos llevaron a trasladar la manipulación experimental del ámbito de la naturaleza de la experiencia infantil (como se hizo en el Estudio 2 al introducir la condición S) a la naturaleza del test en sí mismo. De este modo, en el Estudio 3 rebajamos la exigencia de



adaptación al procedimiento ABA al permitir a los animales una alimentación ad libitum. Este amortiguamiento del procedimiento ABA permitió mostrar que la función protectora del procedimiento *handling* se manifiesta cuando se trata de situaciones de estrés moderado, donde las ratas H se caracterizan por mostrar niveles de ansiedad inferiores a los grupos NH y S, tal como se señala en la literatura y se ha sugerido en el Estudio 3. Sin embargo, bajo condiciones de estrés extremas y que suponen un peligro real para la supervivencia de los animales, como puede ser el procedimiento ABA, las ratas que mejor se adaptan son aquellas que pasaron más tiempo separadas de su madre. Estos resultados tomados en su conjunto, conducen a la conclusión de que los efectos de los tratamientos neonatales dependen de la dureza del test que se emplea. Así, por extensión, nuestros resultados muestran que no hay un cuidado materno (tratamiento neonatal) mejor que otro en sentido absoluto, sino que todo depende de las circunstancias del medio ambiente donde se desenvuelven los sujetos una vez adultos; ya que lo que es favorable en un momento dado, puede no serlo en otro.

La selección de los diferentes tratamientos neonatales se realizó partiendo de la supuesta base del fortalecimiento del vínculo de apego (*handling*), así como del debilitamiento de ese vínculo (separación), siendo el mecanismo de acción de esos tratamientos la potenciación y/o privación de la estimulación materna necesaria para un desarrollo estructural y funcional óptimo de los circuitos implicados en la respuesta de estrés. Sin embargo, en la medida en que el apego se construye sobre la base de la interacción de la madre con las crías, nuestros resultados revelan que la calidad del vínculo de apego es menos importante que la propia situación a afrontar en el futuro. En cualquier caso, la condición NH revela que la ausencia de experiencias “extraordinarias” (léase *handling* o separación) es la que peor equipa a los animales para enfrentarse con situaciones más o menos excepcionales en el futuro.

¿Qué implicaciones podemos extraer de nuestros estudios con respecto a la relación entre apego y anorexia nerviosa en humanos, a pesar de las diferencias anatómicas, fisiológicas y en la biología del desarrollo que existen entre ratas y humanos?

En la medida en que estos estudios han sido realizados para comprobar la relación entre las experiencias infantiles adversas y el desarrollo de la anorexia nerviosa, y hasta donde puede alcanzar un estudio animal de estas características, a partir de los resultados obtenidos no se confirmaría la relación entre experiencia infantil adversa y anorexia nerviosa, sino que incluso se introduce la posibilidad de que sea un aspecto que promueve la resiliencia. Aunque esta conclusión puede parecer “escandalosa”, iría en la misma dirección que la mayoría las conclusiones obtenidas en la literatura en humanos. Tal como se ha desarrollado en el apartado teórico, los intentos por establecer una firme relación entre abuso infantil y anorexia nerviosa, han sido a todas luces infructuosos, no habiendo superado el rango de conjetura atractiva (Connors & Morse, 1993; Gillberg & Rastam, 1998; Schmidt, Humfress & Treasure, 1997).

Además, los cuidados maternos supuestamente más deseables durante la infancia (en forma de *handling* en los estudios realizados) serían aspectos irrelevantes a la hora de evitar o retrasar el desarrollo de la anorexia nerviosa. Quizás, tal como se sugirió en el Estudio 3, recibir un cuidado materno óptimo sea un indicador de buen funcionamiento cuando las exigencias de la vida son moderadas, sin embargo, este efecto protector desaparecería ante la manifestación de un problema donde el componente genético fuera determinante (Grice et al., 2002). Así, por ejemplo, en entornos prósperos y benévolos, un estilo parental positivo para el desarrollo de un apego seguro, a la par que una mayor confianza en sí mismo y en los demás, favorecería un mejor afrontamiento ante situaciones de estrés moderadas. Sin embargo, esta misma confianza y una menor activación del sistema de alerta podrían ser contraproducentes en entornos donde la vida corre riesgo. En este entorno de

peligro para la vida, como es ABA, las ratas separadas, que se comportan como sujetos tímidos o retraídos en pruebas de baja amenaza (test de campo abierto) parecen estar mejor provistas.

En este sentido, cabe especular que un estilo parental que favorece un apego de tipo inseguro está dotando a la persona de un sistema de alerta elevada ante cualquier señal de peligro, que sería el más adecuado en medios socio-económicos desfavorecidos y con una tasa elevada de criminalidad, donde la huida o la violencia pueden ser más útiles para la supervivencia que el diálogo o la educación. Obviamente estos individuos desconfiados, tímidos e hiperreactivos no pueden prosperar en un entorno civilizado y competitivo sin mostrar respuestas desadaptativas que tienen más probabilidades de situarles frente a un juez o la policía que ante un psicoterapeuta.

Por tanto, la orientación que domina la psicología y la psiquiatría desde principios del siglo XX y que trata de explicar dificultades o síntomas en la vida adulta acudiendo a "traumas en la infancia" y a los problemas de apego, de hecho ha nutrido más los argumentos de defensa de los abogados ante los tribunales que los anaqueles de la psicología dedicados a la "firme evidencia".



## 2. LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

No queremos finalizar este trabajo con el carácter especulativo de los párrafos precedentes sin señalar algunas de las posibles líneas de investigación relacionadas con algunos de los interrogantes que nuestro trabajo ha dejado abiertos.

1. Quizás el mayor interrogante que ha dejado planteado nuestro trabajo tiene que ver con el re-encuadre del efecto protector del *handling* en función de dureza del test utilizado. Teniendo en cuenta que los efectos fortalecedores del *handling* sobre el sistema de inhibición de la respuesta al estrés del eje HPA están demostrados fuera de toda duda, y que el mismo equipo de investigación ha documentado que la separación materna prolongada debilita el sistema de inhibición del eje HPA (Anisman et al., 1998), queda por explicar por qué esas diferencias dejan de manifestarse ante situaciones extremas, como el entorno ABA, e incluso producen el efecto contrario.

Así una línea de trabajo interesante, todavía sin explorar, consiste en evaluar los efectos de estos tratamientos sobre un continuo de estrés constituido sobre diferentes ejes, bien sea una gradación de la severidad, cronicidad, o de la naturaleza puramente física o psicológica de las pruebas utilizadas (Ladd et al., 2000, 2005).

2. Relacionado con la línea anterior, otra vía interesante sería seguir explorando en la dirección de la separación materna prolongada como un modelo viable de abuso/abandono infantil. En este caso, no se trataría tanto de alargar el período de separación, sino de privar a las crías del posible efecto protector del contacto con el resto de la camada durante la separación. Se trataría pues de que la separación se realizase de forma individual de manera que cada cría fuese aislada también del resto de la camada. Esta dirección es

la que están explorando algunos autores como Pryce, Bettschen y Feldon (2001).

3. Una incógnita que ha sobrevolado este trabajo de forma permanente, y aun sin despejar, está relacionada con el criterio utilizado para seleccionar a los animales en estos tres estudios: el peso corporal. Como consecuencia de esto, las hembras fueron evaluadas entre 10 y 15 días más tarde que los machos, de manera que no pudo descartarse que esta diferencia de edad no sea un aspecto importante en las diferencias observadas en los tratamientos neonatales. Por este motivo, una propuesta interesante para un futuro estudio sería utilizar ratas de ambos sexos de la misma edad. Este aspecto requiere dejar en un segundo plano el peso de los animales, al que nosotros hemos dado prioridad, ya que es un factor más relevante. Este estudio en el que se controlasen los tres aspectos de la edad, peso y sexo, que de hecho sería bastante complicado de realizar, permitiría aclarar si la edad es un factor más relevante que el peso a la hora de mostrar los efectos del tratamiento para machos y hembras.

4. Una línea que se aparta de las anteriores, pero relacionada con otra línea de investigación en nuestro laboratorio, tiene que ver con la influencia de los tratamientos en la recuperación de los animales una vez que estos alcanzan el criterio de retirada en ABA (Gutiérrez et al., 2006). Así, esta nueva línea de trabajo se centraría en el posible efecto de las experiencias tempranas en diferentes condiciones de recuperación: recuperación en condiciones de comida ad libitum con acceso a rueda, recuperación con programa de restricción de comida pero bloqueando la rueda, o recuperación simplemente devolviendo a los animales a la situación pre-experimental (comida ad libitum y sin acceso a la rueda). Esta línea se centraría no tanto en las condiciones que conducen al colapso de los animales en ABA, sino en la recuperación de la ingesta, del peso corporal y del ciclo estral en el caso de las hembras, después de esa experiencia. Esta línea de investigación podría completar la perspectiva

de la resiliencia que se ha apuntado en algún momento a lo largo de la tesis y que podría ser una línea adicional de investigación.





### 3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbate-Daga, G., Gianotti, L., Mondelli, V., Quartesan, R. & Fassino, S. (2004). The psychopharmacotherapy of anorexia nervosa: Clinical, neuroendocrine and metabolic aspects. *Journal of Endocrinological Investigation*, 27, 975-981.
- Ackerman, S. H. (1989). Disease consequences of early maternal separation. En H. Weiner (Ed.), *Frontiers of stress research* (pp. 85-93). Toronto: Huber.
- Ackerman, S. H., Hofer, M. A. & Weiner, H. (1978). Early maternal separation increases gastric ulcer risk in rats by producing a latent thermoregulatory disturbance. *Science*, 201, 373-76.
- Adam, K. S., Sheldon-Keller, A. E. & West, M. (1996). Attachment organization and history of suicidal behavior in clinical adolescents. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 64, 264-272.
- Ader, R. (1965). Effects of early experience and differential housing on behavior and susceptibility to gastric erosions in the rat. *Journal of Comparative Physiology and Psychology*, 60, 233-238.
- Ader, R. & Grotta, L. J. (1970). Rythmicity in the maternal behaviour of *rattus norvegicus*. *Animal Behavior*, 18, 144-150.
- Ainsworth, M. D. (1963). The development of infant-mother interaction among the Ganda. En B. M. Foss (Ed.), *Determinants of infant behavior*, 2, (pp. 67-104). New York: Wiley.
- Ainsworth, M. D., Blehar, M. C., Waters, E., & Wall, S. (1978). *Patterns of attachment: A psychological study of the Strange Situation*. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Akil, H. & Moreno, I. (1995) Stress. En F. Bloom & D. Kupfer (Eds.), *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* (pp.773-785). New York: Raven.
- Alexander, G. (1939). Anorexia Nervosa. *The Rhode Island Medical Journal*, 12, 189-195.

- Allen, J. P., Hauser, S. T. & Borman-Spurrel, E. (1996). Attachment theory as a framework for understanding sequelae of severe adolescent psychopathology: An 11-year follow-up study. *Journal of Consulting and Clinical Psychology, 64*, 254-263.
- Altemus, M., Glowa, J. R. & Murphy, D. L. (1993). Attenuation of food-restriction-induced running by chronic fluoxetine treatment. *Psychopharmacology Bulletin, 29*, 397-400.
- American Psychiatric Association. (1980). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*, (3a. ed.). Washington, DC: APA.
- American Psychiatric Association. (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*, (3a. ed. rev.). Washington, DC: APA.
- American Psychiatric Association. (2002). *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. (4<sup>o</sup> ed.). Barcelona: Masson.
- American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*, (4a. ed. rev.) Washington, DC: APA.
- Amini, F., Lewis, T., Lannon, R., Louie, A., Baumbacher, G., McGuinness, T. & Schiff, E. Z. (1996). Affect, attachment, memory: contributions toward psychobiologic integration. *Psychiatry, 59* (3), 213-239.
- Anisman, H., Zaharia, M. D., Meaney, M. J., & Merali, Z. (1998). Do early-life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? *International Journal of Developmental Neuroscience, 16*, 149-164.
- Archer, J. (1973). Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Animal Behavior, 21*, 205-235.
- Armstrong, J. G., & Roth, D. M. Attachment and separation. Difficulties in eating disorders: A preliminary investigation. (1989). *International Journal of Eating Disorders, 8* (3), 141-155.
- Bell, R. M. (1985). *Holy anorexia*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Belsky, J., & Cassidy, J. (1994). Attachment: Theory and evidence. En M. Rutter & D. Hay (Eds.), *Development through life: A handbook for practitioners* (pp. 373–402). Hillsdale, NJ: Erlbaum.

- Beneke, W. M. & Vander Tuig, J. G. (1996). Effects of dietary protein and food restriction on voluntary running of rats living in activity wheels. En W. F. Epling, & W. D. Pierce (Eds.), *Activity anorexia. Theory, research, and treatment*, (pp. 57-67). New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- Bergh, C. Brodin, U., Lindberg, G. & Södersten, P. (2002). Randomized controlled trial of a treatment for anorexia and bulimia nervosa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 9486-9491.
- Bergh, C., & Södersten, P. (1998). Anorexia nervosa: rediscovery of a disorder. *Lancet*, 351, 1427-1429.
- Berkman, J. M. (1930). Anorexia nervosa; anorexia, inanition, and low basal metabolic rate. *American Journal of the Medical Sciences*, 180, 411-424.
- Berkman, J. M. (1948). Anorexia nervosa, anterior-pituitary insufficiency, Simmond's cachexia, and Sheeha's disease. *Postgraduate Medicine*, 3, 237-246.
- Berlin, L. J. & Cassidy, J. (1999). Relations among relationships. Contributions from attachment theory and research. En J. Cassidy & P. R. Shaver (Eds.), *Handbook of attachment: Theory, research, and clinical applications* (pp. 689-712). New York: The Guilford Press.
- Beumont, P. J. V. (1991). Foreward. En W. F. Epling & W. D. Pierce (Eds.), *Solving the anorexia puzzle. A scientific approach* (pp. ix-xv). Toronto: Hogrefe and Huber publishers.
- Beumont, P. J. V. (1998). The behavioural disturbance, psychopathology, and phenomenology of eating disorders. En H. W. Hoek, J. L. Treasure & M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the treatment of Eating Disorders* (pp. 27-46). Chichester, England: Wiley.
- Beumont, P. J. V., Arthur, B., Russell, J. D., & Touyz, S. V. (1994). Excessive physical activity in dieting disorder patients: Proposals for a supervised exercise programme. *International Journal of Eating Disorders*, 15, 21-36.
- Beumont, P. J. V., Booth, A. L., Abraham, S. F., Griffiths, D. A. & Turner, T. R. (1983). A temporal sequence of symptoms in patients with anorexia

- nervosa: A preliminary report. En P. L. Darby, P. E. Garfinkel, D. M. Garner & D. V. Coscina (Eds.), *Anorexia Nervosa: Recent developments in research* (pp. 129-136). New York: Alan R. Liss.
- Beumont, P. J. V., Garner, D. M., & Touyz, S. W. (1994). Diagnoses of eating or dieting disorders: What may we learn from past mistakes? *International Journal of Eating Disorders*, 16, 349-362.
- Birmingham, C. L. & Beumont, P. (2004). Medical management of eating disorders: A practical handbook for health care professionals. Cambridge: Cambridge University Press.
- Blinder, B. J., Freeman, D. & Stunkard, A. J. (1970). Behavior therapy of anorexia nervosa: effectiveness of activity as a reinforcer of weight gain. *American Journal of Psychiatry*, 126, 1093-1098.
- Blundell, J. E. & King, N. A. (2000). Exercise, appetite control, and energy balance. *Nutrition*, 16, 519-522.
- Boakes, R. A. & Dwyer, D. (1997). Weight loss in rats produced by running: Effects of prior experience and individual housing. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 50B, 129-148.
- Boakes, R. A., Mills, K. J. & Single, J. P. (1999). Sex differences in the relationship between activity and weight loss in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 113, 1080-1089.
- Bowlby, J. (1956). The growth of independence in the young child. *Royal Society of Health Journal*, 76, 587-591.
- Bowlby, J. (1958). The nature of the child's tie to his mother. *International Journal of Psycho-Analysis*, 39, 350-373.
- Bowlby, J. (1969). *Attachment and loss, Vol. 1: Attachment*. New York: Basic Books.
- Bowlby, J. (1973). *Attachment and loss, Vol. 2: Separation*. New York: Basic Books.
- Bowlby, J., (1979). *The making and breaking of affectional bonds*. México: Tavistock.
- Bretherton, I. (2000). The origins of attachment theory: John Bowlby and Mary Ainsworth. En S. Goldberg, R. Muir & J. Kerr (Eds.), *Attachment theory*:

- Social, developmental, and clinical perspectives* (pp. 45-84). New York: The Analytic Press.
- Brewerton, T. D., Stelfox, E. J., Hibbs, N., Hodges, E. L. & Cochrane, C. E. (1995). Comparison of eating disordered patients with and without compulsive exercising. *International Journal of Eating Disorders*, 17, 413-419.
- Broberg, A. G., Hjalms, I., & Nevenon, L. (2001). Eating disorders, attachment and interpersonal difficulties: a comparison between 18-to 24-year-old patients and normal controls. *European Eating Disorders Review*, 9, 381-396.
- Brooks, A. Liu, J. & Pirke, K. M. (1990). Semistarvation-induced hyperactivity compensates for decreased norepinephrine and dopamine turnover in the mediobasal hypothalamus of the rat. *Journal of Neural Transmission*, 79, 113-124.
- Bruch, H. (1966). Anorexia nervosa and its differential diagnosis. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 141, 555-566.
- Bruch, H. (1973). *Eating Disorders: Obesity, anorexia nervosa and the person within*. New York: Basic Books.
- Bruch, H. (1978). *The golden cage*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Brumberg, J. J. (1988). *Fasting girls. The history of Anorexia Nervosa*. Cambridge, M. A.: Harvard University Press.
- Bulik, C. M., Sullivan, P. F. & Kendler, K. S. (2000). An empirical study of the classification of eating disorders. *American Journal of Psychiatry*, 157, 886-895.
- Cachelin, R. M. & Maher, B. A. (1998). Is amenorrhea a critical criterion for anorexia nervosa? *Journal of Psychosomatic Research*, 44, 435-440.
- Caldji, C., Diorio, J. & Meaney, M. J. (2000). Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. *Biological Psychiatry*, 48, 1164-1174.
- Caldji, C., Francis, D., Sharma, S., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (2000). The effects of early rearing environment on the development of GABAA and

- central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 22, 219-229.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P.M., & Meaney, M. J. (1998). Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 95, 5335-5340.
- Calhoun, J. B. (1962). The ecology and sociology of the Norway rat. Bethesda, MD: U. S. Department of Health, Education and Welfare, Publication Health Service.
- Campbell, P. G. (1995). What would a causal explanation of the eating disorders look like? En G. Szmuckler, C. Dare & J. Treasure (Eds.), *Handbook of eating disorders: Theory, treatment and research* (pp. 49-64). Chichester, England: Wiley.
- Carlson, E. & Sroufe, A. (1995). Contribution of attachment theory to developmental psychopathology. En D. Cicchetti & D. Cohen (Eds.), *Developmental psychopathology. Vol 1: Theory and methods* (pp. 581-617). New York: Wiley.
- Carrera, O., Gutiérrez, E. & Boakes, R. A. (2006). Early handling reduces vulnerability of rats to Activity-Based Anorexia. *Developmental Psychobiology*, 48 (7), 520-527.
- Casper, R. C. (1998). Behavioral activation and lack of concern, core symptoms of anorexia nervosa? *International Journal of Eating Disorders*. 24, 381-93.
- Casper, R.C. (2006). The 'drive for activity' and 'restlessness' in anorexia nervosa: Potential pathways. *Journal of Affective Disorders*, 92, 99-107.
- Casper, R.C. & Heller, W. (1991) 'La douce indifférence' and mood in anorexia nervosa: Neuropsychological correlates. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 15, 15-23.
- Cassidy, J. (1999). The nature of the child's ties. En J. Cassidy & P. R. Shaver (Eds.), *Handbook of attachment: Theory, research, and clinical applications* (pp. 3-20). New York: The Guilford Press.

- Cassidy, J. & Berlin, L. J. (1994). The insecure/ambivalent pattern of attachment: theory and research. *Child Development, 65*, 971-991.
- Chapman, D. P., Whitfield, C. L., Felitti, V. J., Dube, S. R., Edwards, V. J., & Anda, R. F. (2004). Adverse childhood experiences and the risk of depressive disorders in adulthood. *Journal of Affective Disorders, 82*, 217-225.
- Charcot, J. M. (1889). *Diseases of the Nervous System, III*. London: The New Sydenham Society.
- Chassler, L. (1997). Understanding anorexia nervosa and bulimia nervosa from an attachment perspective. *Clinical Social Work Journal, 25* (4), 407-423.
- Connan, F., & Treasure, J. (1998). Stress, eating and neurobiology. En H. W. Hoek, J. L. Treasure & M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the Treatment of Eating Disorders*. Chichester, England: Wiley.
- Connors, M. E. & Morse, W. (1993). Sexual abuse and eating disorders: A review. *International Journal of Eating Disorders, 13*, 1-11.
- Cortright, R. N., Chandler, M. P., Lemon, P. W. & DiCarlo, S. E. (1997). Daily exercise reduces fat, protein and body mass in male but not female rats. *Physiology and Behavior, 62*, 105-111.
- Coscina, D. V. & Garfinkel, P. E. (1991). Animal models of eating disorders: A clinical perspective. En P. Willner (Ed.), *Behavioural models of psychopharmacology: Theoretical, industrial and clinical perspectives* (pp. 237-250). Cambridge: Cambridge University Press.
- Costela, C., Tejedor-Real, P., Mico, J.A., & Gibert-Rahola, J. (1995). Effect of neonatal handling on learned helplessness model on depression. *Physiology and Behavior, 57*, 407-410.
- Crisp, A. (1985). Arousal, physical activity, and energy balance in eating and body weight and shape disorders. *International Journal of Eating Disorders, 4*, 627-649.
- Crittenden, P. M. (1985). Maltreated infants: Vulnerability and resilience. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines, 26*, 85-96.

- Crowell, J. Fraley, R. C. & Shaver, P. R. (1999). Measures of individual differences in adolescent and adult attachment. En J. Cassidy & P. R. Shaver (Eds.), *Handbook of attachment: Theory, research, and clinical applications* (pp. 434-465). New York: Guilford Press
- Davies, C. T. M., Fohlin, L & Thorén, C. (1979a). Temperature regulation in anorexia nervosa. *Journal of Physiology*, 268, 8P.
- Davies, C. T. M., Fohlin, L. & Thorén, C. (1979b). Temperature regulation in anorexia nervosa patients during prolonged exercise. *Acta Medica Scandinava*, 205, 257-262.
- Davis, C. (1992). Body image, dieting behaviours, and personality factors: A study of high-performance athletes. *International Journal of Sport Psychology*, 23, 179-192.
- Davis, C. (1997). Eating disorders and hyperactivity: a psychobiological perspective. *Canadian Journal of Psychiatry*, 42, 168-175.
- Davis, C., Blackmore, E., Katzman, D. K. & Fox, J. (2005). Female adolescents with anorexia nervosa and their parents: A case-control study of exercise attitudes and behaviours. *Psychological Medicine*, 35, 377-386.
- Davis, C., Kennedy, S. H., Ravelsky, E., Dionne, M., Brewer, H., Neitzert, C., & Ratusny, D. (1995). Obsessive compulsiveness and physical activity in anorexia nervosa and high-level exercising. *Journal of Psychosomatic Research*, 39, 967-976.
- Davy, S. R., Benes, B. A. & Driskell, J. A. (2006). Sex differences in dieting trends, eating habits, and nutrition beliefs of a group of midwestern college students. *Journal of the American Dietist Association*, Vol. 106 (10), 1673-7.
- de Kloet, E. R., Rosenfeld, P., van Eekelen, J. A., Sutanto, W., & Levine, S. (1988). Stress, glucocorticoids and development. *Progress in Brain Research*, 73, 101-120.
- de Kloet, E. R., Sibug, R. M., Helmerhorst, F. M., & Schmidt, M. (2005). Stress, genes and the mechanism of programming the brain for later life. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 271-281.



- Denenberg, V. & Karas, G. (1959). Effects of differential infantile handling upon weight gain and mortality in the rat and mouse. *Science*, vol.130, 629-630.
- Dixon, D. P., Ackert, A. M. & Eckel, L. A. (2003). Development of, and recovery from, activity-based anorexia in female rats. *Physiology and Behavior*, 80, 273-279.
- Doerries, L. E., Stanley, E. Z. & Aravich, P. F. (1991). Activity-based anorexia: relationship to gender and activity-stress ulcers. *Physiology and Behavior*, 50, 945-949.
- Dwyer, D. M. & Boakes, R. A. (1997). Activity-based anorexia in rats as a failure to adapt to a feeding schedule. *Behavioral Neuroscience*, 111, 195-205.
- Edholm, O. G., Fletcher, J. G., Widdowson, E. M. & McCance, R. A. (1955). The energy expenditure and food intake of individual men. *British Journal of Nutrition*, 9, 286-300.
- El Mundo, Inc. (2004). *Entrevista a Christian Bale: "Delgado me veía bello porque sentía una enorme paz"*. Recuperado el 20 de noviembre de 2005, de <http://elmundo.es/metropoli/2004/12/17/cine/110323807.html>.
- Epling, W. F. & Pierce, W. D. (1988). Activity-based anorexia: A biobehavioral perspective. *International Journal of Eating Disorders*, 7, 475-485.
- Epling, W. F. & Pierce, W. D. (1991). *Solving the anorexia puzzle. A scientific approach*. Toronto: Hogrefe and Huber publishers.
- Epling, W. F. & Pierce, W. D. (1996). *Activity Anorexia. Theory, research, and treatment*. New Jersey: Mahwah, LEA.
- Epling, W. F., & Pierce, W. D. (1984). Activity-based anorexia in rats as a function of opportunity to run on an activity wheel. *Nutrition and Behaviour*, 2, 37-49.
- Epling, W. F., Pierce, W. D. & Stefan, L. A. (1981). Schedule-induced self-starvation. En C. M. Bradshaw, E. Szabadi & C. F. Lowe (Eds.), *Quantification of steady-state operant behaviour* (pp. 393-396). Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press.
- Epling, W. F., Pierce, W. D., & Stefan, L. A. (1983). A theory of activity-based anorexia. *International Journal of Eating Disorders*, 3, 27-46.

- Epstein, L. H., Masek, B. J. & Marshall, W. R. A. (1978). A nutritionally based school program for control of eating in obese children. *Behavior Therapy*, 9, 766-778.
- Escamilla, R. F. (1944). Anorexia nervosa or Simmonds' disease? Notes on clinical management with some points of differentiation between the two conditions. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 99, 583-587.
- Escamilla, R. F., & Lisser, H. (1942). Simmonds' disease: A clinical study with review of the literature; differentiation from anorexia nervosa by statistical analysis of 595 cases, 101 of which were proved pathologically. *Journal of Clinical Endocrinology*, 2, 65.
- Essex, M. J., Klein, M. H., Cho, E., & Kalin, N. H. (2002). Maternal stress beginning in infancy may sensitize children to later stress exposure: effects on cortisol and behavior. *Biological Psychiatry*, 52, 776-784.
- Falk, J. K., Halmi, K. A. & Tryon, W. W. (1985). Activity measures in anorexia nervosa. *Archives of General Psychiatry*, 42, 811-814.
- Farquaharson, R. F., & Hyland, H. H. (1938). Anorexia nervosa: metabolic disorder of psychologic origin. *Journal of the American Medical Association*, 111, 1085-1092
- Felitti, V. J., Anda, R. F., Nordenberg, D., Williamson, D. F., Spitz, A. M., Edwards, V., Koss, M. P., & Marks, J. S. (1998). Relationship of childhood abuse and household dysfunction to many of the leading causes of death in adults. The Adverse Childhood Experiences (ACE) Study. *American Journal of Preventive Medicine*, 14, 245-258.
- Fernández, J. (Productor), & Anderson, B. (Director), (2004). *El maquinista*. [Cinta cinematográfica]. España: Filmax.
- Fessler, D. M. T. (2002). Pseudoparadoxical impulsivity in restrictive anorexia nervosa: a consequence of the logic of scarcity. *International Journal of Eating Disorders*, 31, 376-388.
- Fichter, M. M., Quadflieg, N., & Hedlund, S. (2005). Twelve-year course and outcome predictors of anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 39 (2), 87-100.

- Field, T. (1985). Attachment as psychobiological attunement: being on the same wavelength. En M. Reite & T. Field (Eds.), *The psychobiology of attachment and separation* (pp. 455-480). London: Academic Press.
- Field, T. (1998). Maternal depression effects on infants and early interventions. *Preventive Medicine, 21*, 200-203.
- Field, T. & Reite, M. (1984). Children's responses to separation mother during the birth of another child. *Child Development, 55*, 1308-1316.
- File, S. (1995). Animal models of different anxiety states. *Advances in Biochemical Psychopharmacology, 48*, 93-113.
- Finger, F. W. (1951). The effects of food deprivation and subsequent satiation upon general activity in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 44*, 557-564.
- Fonagy, P., Leigh, T., Steele, M., Steele, H., Kennedy, R., Matoon, G., Target, M. & Gerber, A. (1996). The relation of attachment status, psychiatric classification and response to psychotherapy. *Journal of Consulting and Clinical Psychology, 64*, 22-31.
- Fotogramas (2004). Christian Bale, cachas y anoréxico. Diciembre, p. 147.
- Francis, D., Diorio, J., LaPlante, P., Weaver, S., Seckl, J. R. & Meaney, M. (1996). The role of early environmental events in regulating neuroendocrine development. *Annals of the New York Academy of Sciences, 794*, 136-152.
- Francis, D., Diorio, J., Liu, D., & Meaney, M. (1999). Nongenomic transmission across generations in maternal behavior and stress response in the rat. *Science, 286*, 1155-1158.
- Franklin, J. C., Schielle, B. C., Brozek, J. & Keys, A. (1948). Observations on human behavior in experimental semistarvation and rehabilitation. *Journal of Clinical Psychology, 4*, 28-45.
- Freud, S. (1936). *The problem of anxiety*. New York: Norton.
- Garfinkel, P. E. & Garner, D. M. (1982). *Anorexia nervosa: A multidimensional approach*. New York: Brunner Mazel.
- Garfinkel, P. E., Goering, E. L. P., Spegg, C., Goldbloom, D., Kennedy, S., Kaplan, A. S. & Woodside, D. B. (1996). Should amenorrhoea be

- necessary for the diagnosis of anorexia nervosa? Evidence from a Canadian community sample. *British Journal of Psychiatry*, 168, 500-506.
- Garner, D. M., & Garfinkel, P. E. (1979). The Eating Attitudes Test: An index of the symptoms of anorexia nervosa. *Psychological Medicine*, 9, 273-279.
- Garner, D. M., Garfinkel, P. E., Schwartz, D. & Thompson, M. (1980). Cultural expectations of thinness in women. *Psychological Reports*, 47, 483-491.
- Garner, D. M., Rosen, L. W. & Barry, D. (1998). Eating disorders among athletes. *Sport Psychiatry*, 7, 839-857.
- Gelegen, C., Collier, D. A., Campbell, I. C., Oppelaar, H., van den Heuvel, J., Adan R. A. & Kas, M. J. (2007). Difference in susceptibility to activity-based anorexia in two inbred strains of mice. *European Neuropsychopharmacology*, 17 (3), 199-205.
- Gelegen, C., Collier, D. A., Campbell, I. C., Oppelaar, H. & Kas, M. J. (2006). Behavioral, physiological, and molecular differences in response to dietary restriction in three inbred mouse strains. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 291, E574-81.
- Gendall, K. A., Joyce, P. R., Carter, F. A., McIntosh, V. V., Jordan, J. & Bulik, C. M. (2006). The psychobiology and diagnostic significance of amenorrhea in patients with anorexia nervosa. *Fertility and Sterility*, 85, 1531-1535.
- George, C. & Solomon, J. (1999). Attachment and caregiving. The caregiving behavioral system. En J. Cassidy & P. R. Shaver (Eds.), *Handbook of attachment: Theory, research, and clinical applications* (pp. 649-670). New York: The Guilford Press.
- Gillberg, C. & Rastam, M. (1998). The etiology of anorexia nervosa. En H. W. Hoek, J. L. Treasure & M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the treatment of Eating Disorders* (pp. 127-142). Chichester, England: Wiley.
- Glantz, M., & Johnson, J. L. (Eds.). (1999). *Resilience and development: Positive life adaptations*. New York: Kluwer Academic.
- Glavin, G. B. & Paré, W. P. (1985). Early weaning predisposes rats to exacerbated Activity-Stress ulcer formation. *Physiology and Behavior*, 34, 907-909.

- González, A. S., Rodríguez Echandía, E. L. Cabrera, R., Fóscolo, M. R. & Fracchia, L. N. (1990). Neonatal chronic stress induces subsensitivity to chronic stress in adult rats. *I. Effects on forced swim behavior and endocrine responses. Physiology and Behavior*, 47, 735-741.
- Gordon, R. A. (1998). Concepts of eating disorders: A historical reflection. En H. W. Hoek, J. L. Treasure & M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the treatment of Eating Disorders* (pp. 5-26). Chichester, England: Wiley.
- Greenberg, M. T. (1999). Attachment and psychopathology in childhood. En J. Cassidy & P. R. Shaver (Eds.), *Handbook of attachment: Theory, research, and clinical applications* (pp. 469-496). New York: The Guilford Press.
- Greenberg, M. T. & Speltz, M. L. (1988). Attachment and the ontogeny of conduct problems. En J. Belsky & T. Nezworcki (Eds.), *Clinical implications of attachment* (pp. 177-218). Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Grice, D. E.; Halmi, K. A.; Fichter, M. M.; Strober, M.; Woodside, D. B.; Treasure, J. T.; Kaplan, A. S.; Magistretti, P. J.; Goldman, D.; Bulik, C. M.; Kaye, W. H.; Berrettini, W. H. (2002). Evidence for a susceptibility gene for anorexia nervosa on chromosome 1. *American Journal of Human Genetics*, 70, 787-792.
- Gull, W. (1868). The address in medicine delivered before the Annual Meeting of the British Medical Association at Oxford. *Lancet*, 2, 171-176.
- Gull, W. (1874). Anorexia nervosa (apepsia hysterica, anorexia hysterica). *Transactions of the Clinical Society of London*, 7, 22-28.
- Gutiérrez, E., Baysari, M., Carrera, O., Whitford, T., & Boakes, R. A. (2006). High ambient temperature reduces rate of body-weight loss produced by increased activity. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 59 (7), 1196-1211.
- Gutiérrez, E. & Vázquez, R. (2000). Supuestos y anomalías en la anorexia nerviosa. La hiperactividad, significación clínica y tratamiento. En N. Gracia, Pérez, B. y Rial, M. (Eds.), *Los trastornos de la alimentación desde una perspectiva multidisciplinar* (pp. 257-285). Aldakuntza: Bilbao.

- Gutiérrez, E. & Vázquez, R. (2001). Heat in the treatment of patients with anorexia nervosa. *Eating and Weight Disorders*, 6, 49-52.
- Gutiérrez, E., Vázquez, R. & Boakes, R. A. (2002). Activity-based anorexia: Ambient temperature has been a neglected factor. *Psychonomic Bulletin Review*, 9 (2), 239-49.
- Gutiérrez, M. T. *La anorexia por actividad caracterizada como una conducta adjuntiva*. Tesis Doctoral, UNED, Madrid, 2005.
- Gutiérrez, M. T. & Pellón, R. (2002). Anorexia por actividad: una revisión teórica y experimental. *Journal of Psychology and Psychological Therapy*, Vol. 2, 131-145.
- Hall, J. F. & Hanford, P. V. (1954). Activity as a function of a restricted feeding schedule. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47 (5), 362-363.
- Hall, R. C. W. & Beresford, T. P. (1989). Medical complications of anorexia and bulimia. *Psychiatric Medicine*, 7, 165-192.
- Halmi, K. A. (1974). Anorexia nervosa: Demographic and clinical features. *Psychosomatic Medicine*, 36, 18-26.
- Hara, C., Manabe, K., & Ogawa, N. (1981). Influence of activity-stress on thymus, spleen and adrenal weights in rats: possibility for an immunodeficiency model. *Physiology and Behavior*, 27, 43-248.
- Hara, C. & Ogawa, N. (1983). Influence of maturation on ulcer-development and immunodeficiency induced by activity-stress in rats. *Physiology and Behavior*, 30, 757-761.
- Hardt, J. & Rutter, M. (2004). Validity of adult retrospective reports of adverse childhood experiences: Review of the evidence. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 45, 60-273.
- Harlan, Inc. *Sprague-Dawley: 12 week growth data*. Recuperado el 15 de enero de 2007, de <http://www.harlan.com/models/spraguedawley.asp>.
- Harlow, H. F. (1958). The nature of love. *American Psychologist*, 13, 673.
- Harris, E. C. & Barraclough, B. (1998). Excess mortality of mental disorder. *The British Journal of Psychiatry*, 173, 11-53.

- Hebebrand, J., Exner, C., Hebebrand, K., Holtkamp, C., Casper, R. C., Remschmidt, H., Herpertz-Dahlmann, B. M., & Klingenspor, M. (2003). Hyperactivity in patients with anorexia nervosa and in semistarved rats: evidence for a pivotal role of hypoleptinemia. *Physiology and Behavior*, 79 (1), 25-37.
- Hillebrand, J. J., de Rijke, C. E., Brakkee, J. H., Kas, M. J. & Adan, R. A. (2005). Voluntary access to a warm plate reduces hyperactivity in activity-based anorexia. *Physiology and behavior*, 85, 151-157.
- Hoek, H. W., & van Hoeken, D. (2003). Review of prevalence and incidence of eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 34, 383-396.
- Hofer, M. A. (1982). Some thoughts on "The transduction of experience" from a developmental perspective. *Psychosomatic Medicine*, Vol. 44(1), 19-28.
- Hofer, M. A. (1984). Relationships as regulators: A psychobiologic perspective on bereavement. *Psychosomatic Medicine*, 46, 183-197.
- Hofer, M. A. (1987). Shaping forces within early social relationships. En N. A. Krasnegor, E. M. Blass, M. A. Hofer & W. P. Smotherman (Eds.), *Perinatal development: a psychobiological perspective* (pp. 251-274). New York: Academic Press.
- Hofer, M. A. (1994). Early social relationships as regulators of infant physiology and behaviour. *Acta Paediatrica*, 397 (Suppl.), 9-18.
- Hofer, M. A. (1996). On the nature and consequence of early loss. *Psychosomatic Medicine*, 58 (6), 570-581.
- Hofer, M. A. (2000). Hidden regulators: implications for a new understanding of attachment, separation and loss. En S. Goldberg, R. Muir & J. Kerr (Eds.), *Attachment theory: Social, developmental, and clinical perspective* (pp. 203-232). New York: The Analytic Press.
- Hofer, M. A. (2002). The riddle of development. En D. Lewkowicz & R. Lickliter (Eds.), *Conceptions of development: Lessons from the laboratory* (pp. 5-29). New York: Psychology Press.
- Hofer, M. A. (2006). The psychobiological roots of early attachment. *Psychological Science*, 15, 84-88.
- Hofer, M. A. & Shair, H. N. (1978). Ultrasonic vocalization during social

- interaction and isolation in 2-week-old rats. *Developmental Psychobiology*, 11, 495-504.
- Hofer, M. A. & Sullivan, R. (2001). Toward a neurobiology of attachment. En Nelson, C. & Luciana, M. (Eds.), *Handbook of developmental cognitive neuroscience* (pp. 599-616). England: The Mit Press.
- Hollenbeck, A. R., Susman, E. J., Nannis, E. D., Strope, B. E., Hersh, S. J., Levine, S., & Pizzo, P. A. (1980). Children with serious illness: Behavioral correlates of separation and isolation. *Child Psychiatry and Human Development*, 11, 3-11.
- Holmes, J. (2000). "Something there is that doesn't love a wall": John Bowlby, attachment theory, and psychoanalysis. En S. Goldberg, R. Muir & J. Kerr (Eds.), *Attachment theory: Social, developmental, and clinical perspectives* (pp. 19-44). New York: The Analytic Press.
- Holtkamp, C., Hebebrand, J. & Herpertz-Dahlmann, B. M. (2004). The contribution of anxiety and food restriction on physical activity levels in acute anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 36, 163-171.
- Hsu, L. K. G. & Sobkiewick, T. A. (1991). Body image disturbance: time to abandon the concept for eating disorders? *International Journal of Eating Disorders*, 10, 15-30.
- Hsu, L. K. G. & Lee, S. (1993) Is weight phobia always necessary for a diagnosis of anorexia nervosa? *American Journal of Psychiatry*, 150, 1466-1471.
- Huot, R. L., Ladd, C. O. & Plotsky, P. M. (2000). Maternal deprivation. En G. Fink (Ed.), *Encyclopedia of stress, Vol 2* (pp. 699-706). Florida: Academic Press.
- Janet, P. (1903). *Les obsessions et la psychasthénie*. Paris: Felix Alcan.
- Janet, P. (1929). The major symptoms of hysteria. En Kaufman, M. R. y Heiman, M. (Eds.), *Evolution of psychosomatic concepts*, (pp. 156-160). New York: International University Press, 1964.



- Jans, J. & Woodside, B. C. (1990). Nest temperature: Effects on maternal behaviour, pup development, and interactions with handling. *Developmental Psychobiology*, 23, 519-534.
- Johansen, J. & Schalling, M. (2001). The anorexia mouse. En J. Owen, J. Treasure & D. A. Collier (Eds.), *Animal models-disorders of eating behaviour and body composition*, (pp. 193-203). Boston: Kluwer Academic Publishing.
- Johnson, C., Powers, P. S. & Dick, R. (1999). Athletes and eating disorders: The national collegiate athletic association study. *International Journal of Eating Disorders*, 26, 179-188.
- Kalinchev, M., Easterling, K. W., Plotsky, P. & Holtzman, S. G. (2002). Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long-Evans rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 73, 131-140.
- Kaufman, C. & Rosenblum, L. (1967). The reaction to separation in infant monkeys: Anaclitic depression and conservation-withdrawal. *Psychosomatic Medicine*, 29, 648-675.
- Kaufman, M. R. & Heiman, M. (1964). *Evolution of psychosomatic concepts. Anorexia nervosa: A paradigm*. London: The Hogarth Press.
- Keys, A., Brozek, J., Henschel, A., Mickelsen O., & Taylor, H. (1950). *The biology of human starvation*. The University of Minnesota Press: Minneapolis.
- King, A. (1963). Primary and secondary anorexia nervosa syndromes. *British Journal of Psychiatry*, 109, 470-479.
- Kohl, M., Foulon, C. & Guelfi, J. D. (2004). Aspects comportementaux et biologiques de l'hyperactivité dans l'anorexie mentale. *Encéphale*, 30, 492-499.
- Kraemer, G. W. (1992). A psychobiological theory of attachment. *Behavioral and Brain Sciences*, 15, 493-541.

- Kron, L., Katz, J. L., Gorzynski, G. & Weiner, H. (1978). Hyperactivity in anorexia nervosa: A fundamental clinical feature. *Comprehensive Psychiatry*, 19, 433-440.
- Kuhn, C. M., & Schanberg, S. M. (1998). Responses to maternal separation: Mechanisms and mediators. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 16, 261-270.
- Ladd, C., Huot, R. L., Thirivikraman, K. V., Nemeroff, C. B., Meaney, M. J. & Plotsky, P. M. (2000). Long-term behavioural and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. *Progress in Brain Research*, 122, 81-103.
- Ladd, C., Owens, M. J. & Nemeroff, C. B. (1996). Persistent changes in corticotropin-releasing factor neuronal systems induced by maternal deprivation. *Endocrinology*, 137, 1212-1218).
- Ladd, C., Thirivikraman, K., Huot, R. & Plotsky, P. (2005). Differential neuroendocrine responses to chronic variable stress in adult Long Evans rats exposed to handling-maternal separation as neonates. *Psychoneuroendocrinology*, 30, 520-533.
- Lambert, K. G. (1993). The activity-stress paradigm: possible mechanisms and applications. *The Journal of General Psychology*, 120, 21-32.
- Lambert, K. G., & Hanrahan, L. (1990, Abril). *The effect of ambient temperature on the activity-stress ulcer paradigm*. Sesión de cartel presentada en la reunión de la Southern Society for Philosophy and Psychology, Louisville, KY.
- Lambert, K. G. & Peacock, L. J. (1989). Feeding regime affects activity-stress ulcer production. *Physiology and Behavior*, 48, 743-746.
- Lambert, K. G. & Porter, J. H. (1992). Pimozide mitigates excessive running in the activity-stress paradigm. *Physiology and behavior*, 52, 299-304.
- Lasègue, C. (1873). De l'anorexie hystérique. *Archives Générales de Médecine*, 21, 385-403.
- Lattanzio, S. B. & Eikelboom, R. (2003). Wheel access duration in rats: I. Effects on feeding and running. *Behavioral Neuroscience*, 117, 496-504.

- Lee, S., Ho, T. P. & Hsu, L. K. (1993). Fat phobic and non-fat phobic anorexia nervosa: A comparative study of 70 Chinese patients in Hong Kong. *Psychological Medicine*, 23, 999-1017.
- Levine, S. (1957). Infantile experience and resistance to physiological stress. *Science*, 126, 405.
- Levine, S. (1975). Psychosocial factors in growth and development. In: L. Levi (Ed.), *Society, stress, and disease* (pp. 43-50). London: Oxford University Press.
- Levine, S. (2002). Enduring effects of early experience on adult behaviour. En D. W. Plaff, A. P. Arnold, A. M. Etgen, S. E. Fahrback & R. T. Rubin (Eds.), *Hormones, brain and behaviour*, Vol. 4 (pp. 535-542). New York: Academic Press.
- Levine, S., Chevalier, J. A. & Korchin, S. J. (1956). The effects of early shock and handling on later avoidance learning. *Journal of Personality*, 24, 475-493.
- Levine, S., & Mullins, R., F. (1971). Hormones in infancy. En G. Newton & S. Levine (Eds.), *Early experience and behavior: The psychobiology of development* (2<sup>o</sup> ed., pp. 168-197). Illinois: Charles C. Thomas.
- Levine, S., Haltmeyer, G. C., Karas, G. G. & Denenberg, V. H. (1967). Physiological and behavioral effects of infantile stimulation. *Physiology and Behavior*, 2, 55-59.
- Levine, S., Huchton, D., M., Wiener, S. G., & Rosenfeld, P. (1992). Time course of the effect of maternal deprivation on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the infant rat. *Developmental psychobiology*, 24, 547-558.
- Levitsky, D. & Collier, G. (1968). Schedule-induced wheel running. *Physiology and Behavior*, 3, 571-573.
- Liu, D., Dorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., Sharma, S., Pearson, D., Plotsky, P. M. & Meaney, M. (1997). Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science*, 277, 1659-1662.
- Lorenz, K. E. (1935). Der kumpan in der Umwelt des vogels. En C. H. Schiller (Ed.), *Instinctive behavior*. New York: International Universities Press.

- Losada, M. C., Freire, M., Pardiñas, M. C., Vazquez, M. J., Pereiro, M. D., Nuñez, M. J., Varela, M., Gutiérrez, E. (2001, Abril). *Effect of Temperature Modifications on the Development and Reversibility of the Activity-Stress Paradigm in Rats: Relationship to Anorexia Nervosa Therapy?* Sesión de cartel presentada en la International Behavioral Neuroscience Society, Cancún.
- Löwe, B., Zipfel, S., Buchholz, C., Dupont, Y., Reas, D. L. & Herzog, W. (2001). Long-term outcome of anorexia nervosa in a prospective 21-year follow up study. *Psychological Medicine*, 31, 881-890.
- Luk, P. & Wakeling, A. (1980). Altered thresholds for thermoregulatory sweating and vasodilatation in anorexia nervosa. *British Medical Journal*, 281, 906-908.
- Luk, P. & Wakeling, A. (1981). Increased cutaneous vasoreactivity to cold in anorexia nervosa. *Clinical Science*, 61, 559-567.
- Luk, P. & Wakeling, A. (1982). Set-point displacement for behavioural thermoregulation in anorexia nervosa. *Clinical Science*, 62, 677-682.
- Macrí, S., Mason, G. J. & Würbel, H. (2004). Dissociation in the effects of neonatal maternal separations on maternal care and the offspring's HPA and fear responses in the rats. *European Journal of Neurosciences*, 20, 1017-1024.
- Main, M., Kaplan, N., & Cassidy, J. (1985). Security in infancy, childhood, and adulthood: A move to level of representation. En I. Bretherton & E. Waters (Eds.), *Growing points of attachment theory and research. Monographs of the Society for Research in Child Development*, 50 (1-2, Serial No. 209), 66-104.
- Marmendal, M. (2005). *Maternal separation in the rat: Long-term effects of early life events on emotionality, drug response and neurobiology*. Doctoral dissertation, Department of Psychology, Göteborg University, Sweden.
- Marrazzi, M. A., Mullingsbritton, J., Stack, L., Powers, R. J., Lawhorn, J., Graham, V., Eccles, T. & Gunter, S. (1990). Atypical endogenous opioid systems in mice in relation to an autoaddiction opioid model of anorexia nervosa. *Life Science*, 47 (16), 1427-35.

- Maunder, R. G. & Hunter, J. J. (2001). Attachment and psychosomatic medicine: developmental contributions to stress and disease. *Psychosomatic Medicine*, 63, 556-567.
- Mavissakalian, M. (1982). Anorexia nervosa treated with response prevention and prolonged exposure. *Behavior Research and Therapy*, 20 (1), 27-31.
- McCauley, J., Kern, D. E., Kolodner, K., Dill, L., Schroeder, A. F., DeChant, H. K., Ryden, J., Derogatis, L. R., & Bass, E. B. (1997). Clinical characteristics of women with a history of childhood abuse: unhealed wounds. *Journal of the American Medical Association*, 277, 1362-1368.
- McIntosh, J., Anisman, H. & Merali, Z. (1999). Short-and long-periods of neonatal maternal separation differentially affect anxiety and feeding in adult rats: Gender-dependant effects. *Physiology and Behavior*, 113, 97-106.
- McIntosh, V., Jordan, J., Carter, F., Luty, S., McKenzie, J., Bulik, C., Frampton, C. & Joyce, P. (2005). Three psychotherapies for anorexia nervosa: a randomized, controlled trial. *American Journal of Psychiatry*, 162, 741-747.
- Meaney, M. (2001)a. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience*, 24, 1161-1192.
- Meaney, M. (2001)b. Nature, nurture and the disunity of knowledge. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 935, 50-61.
- Meyer, B. & Weinroth, L. (1957). Observations on psychological aspects of anorexia nervosa. *Psychosomatic Medicine*, XIX, 389-398.
- Mitchell, J. E., Cook-Myers, T. & Wonderlich, S. A. (2005). Diagnostic criteria for anorexia nervosa: Looking ahead to DSM-V. *International Journal of Eating Disorders*, 37, S95-S97.
- Mondon, C. E., Dolkas, C. B., Sims, C. & Reaven, G. M. (1985). Spontaneous running activity in male rats: Effect of age. *Journal of Applied Physiology*, 58, 1553-1557.
- Morrow, N.; Schall, M.; Grijalva, C.; Geiselman, P.; Garrick, T.; Nucción, S.; & Novin, D. (1997). Body temperature and wheel running predict survival

- times in rats exposed to activity-stress. *Physiology and Behavior*, Vol. 62 (4), 815-825.
- Morton, R. (1694). *Phthysiologia: Or, a Treatise of Consumptions*. London: Smith & Walford.
- Movieweb, Inc. (2004). *Interview: Christian Bale talks The Machinist!* Recuperado el 15 de noviembre de 2005 de <http://www.movieweb.com/news/38/5538php>.
- Mrosovsky, N. (1984). Animal models: Anorexia yes, nervosa no. En K. M. Pirke & D. Ploog (Eds.), *The psychobiology of anorexia nervosa* (pp. 22-34). New York: Springer-Verlag.
- Nemeroff, C. B. (2004). Neurobiological consequences of childhood trauma. *Journal of Clinical Psychiatry*, 65 (Suppl. 2), 18-28.
- Nickell, A. D., Waudby, C. J. & Trull, T. J. (2002). Attachment, parental bonding and borderline personality disorder features in young adults. *Journal of Personality Disorders*, 16 (2), 148-59.
- Nishita, J. K., Knopes, K. D., Ellinwood, E. H. & Rockwell, W. J. K. (1986). Hypothermia and abnormalities in thermoregulation in patients with anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 5, 713-725.
- Núñez, J. F., Ferré, P., García, E., Escorihuela, R. M., Fernandez-Teruel, A. & Tobeña, A. (1995). Postnatal handling reduces emotionally ratings and accelerates two-way active avoidance in female rats. *Physiology and Behavior*, 57, 831-835.
- O'Kearney, R. (1996). Attachment disruption in anorexia nervosa and bulimia nervosa: a review of theory and empirical research. *International Journal of Eating Disorders*, 20 (2), 115-127.
- Ohl, F., Toschi, N., Wigger, A., Henniger, M. S. & Landgraf, R. (2001). Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety. *Behavioral Neuroscience*, 115, 42-36.
- Organización Mundial de la Salud. (1992). *CIE-10. Clasificación Internacional de Enfermedades (10ª edición)*. Madrid: Meditor.
- Owens, M. & Nemeroff, C. (1991). The physiology and pharmacology of corticotrophin-releasing factor. *Pharmacological Review*, 43, 425-473.

- Palazzoli, M. (1978). *Self-starvation*. New York: Aronson.
- Palmer, H. D. & Jones, M. S. (1939). Anorexia nervosa as a manifestation of compulsión neurosis: A study of psychogenic factors. *Archives of Neurology and Psychiatry*, *41*, 856-861.
- Paré, W. P. (1975). The influence of food consumption and running activity on the activity-stress ulcer in the rat. *Digestive Diseases*, *20*, 262-273.
- Paré, W. P. (1977). Body temperature and the activity-stress ulcer in the rat. *Physiology and Behavior*, *18*, 219-223.
- Paré, W. P. (1980). Psychological studies of stress ulcer in the rat. *Brain Research Bulletin*, *Vol. 5* (Suppl. 1), 73-79.
- Paré, W., P. & Houser, V. (1973). Activity and food restriction effects on gastric glandular lesions in the rat: The activity-stress ulcer. *Bulletin of the Psychonomic Society*, *Vol. 2*, 213-214.
- Paré, W. P., & Valdsaar, E. (1985). The effects of housing and preshock on A-S ulcer. *Physiological Psychology*, *13*, 33-36.
- Pascual, R. (2002). La interrupción temprana del vínculo social altera la organización citoarquitectónica y expresión de neuropéptidos en la corteza prefrontal. *Revista Chilena de Neuro-psiquiatría*, *40*, 9-20.
- Phillips, N. K., Hammen, C. L., Brennan, P. A., Najman, J. M. & Bor, W. (2005). Early adversity and the prospective prediction of depressive and anxiety disorders in adolescents. *Journal of Abnormal Child Psychology*, *33*, 13-24.
- Pierce, W. D. & Epling, W. F. (1994). Activity Anorexia. An interplay between basic and applied behavior analysis. *The Behavior Analyst*, *17*, 7-23.
- Pierce, W. D., Epling, W. F. & Boer, D. P. (1986). Deprivation and satiation: The interrelations between food and wheel running. *Journal of Experimental Analysis of Behaviour*, *46*, 199-210.
- Pierce, W. D. & Epling, W. F. (1991). Activity Anorexia. An animal model and theory of human self-starvation. En A. Boulton, G. Baker & M. Martin-Iverson (Eds.), *Neuromethods*, *Vol 19. Animal Models in Psychiatry, II*. Clifton, NJ: The Humana Press.

- Pietromonaco, P. P. & Feldman Barrett, L. (2000). The Internal Working Models concept: What do we really know about the self in relation to others? *Review of General Psychology*, 4 (2), 155-175
- Plotsky, P. M. & Meaney, M. (1993). Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotrophin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Molecular Brain Research*, 18, 195-200.
- Polan, H. J. & Hofer, M. A. (1999). Psychobiological origins of infant attachment and separation responses. En S. Goldberg, R. Muir & J. Kerr (Eds.), *Attachment theory: Social, developmental, and clinical perspectives* (pp. 161-180). New York: The Analytic Press.
- Powell, G. F., Brasel, J. A. & Blizzard, R. M. (1967). Emotional deprivation and growth retardation simulating idiopathic hypopituitarism. I. Clinical evaluation of the syndrome. *New England Journal of Medicine*, 276, 1271-1278.
- Powell, G. F., Brasel, J. A., Raiti, S. & Blizzard, R. M. (1967). Emotional deprivation and growth retardation simulating idiopathic hypopituitarism. II. Endocrinologic evaluation of the syndrome. *New England Journal of Medicine*, 276, 1279-1283.
- Preuss, T. M. (2000). Taking the measure of diversity: comparative alternatives to the model-animal paradigm in cortical neuroscience, *Brain, Behavior and Evolution*, 55, 287-299.
- Pryce, C. R., Bettschen, D. & Feldon, J. (2001). Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. *Developmental Psychobiology*, 38, 239-251.
- Pryce, C. R. & Feldon, J. (2003). Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: Manipulations, effects and mediating mechanisms. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27, 57-71.
- Quinn, R. (2005). Editorial opinion: Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years?. *Nutrition*, 21, 775-777
- Raimbault, G. & Eliacheff, C. (1989). *Les indomptables figures de l'anorexie*. Paris: Éditions Odile Jacob.



- Ramacciotti, A., Sorbello, M., Pazzagli, A., Vismara, L., Mancone, & Pallanti, S. (2001). Attachment processes in eating disorders. *Eating and Weight Disorders*, 6, 166-170.
- Reid, L. S. & Finger, F. W. (1955). The rat's adjustment to 23-hour food-deprivation cycles. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48, 110-113.
- Reite, M. & Capitanio, J. (1985). On the nature of social separation and social attachment. En M. Reite & T. Field (Eds.), *The psychobiology of attachment and separation* (pp. 223-255). New York: Academic Press.
- Reite, M., Short, R., Kaufman, A., Stynes, A. J. & Pauley, J. D. (1978). Heart rate and body temperature in separated monkey infants. *Biological Psychiatry*, 13, 95-105.
- Renard, G., M., Suárez, M., M., Levin, G., M. & Rivarola, M., A. (2005). Sex differences in rats: Effects of chronic stress on sympathetic system and anxiety. *Physiology and Behavior*, 85, 363-369.
- Richardson, H. B. (1939). Simmonds disease and anorexia nervosa. *Archives of Internal Medicine*, 63, 1-28.
- Richter, C. P. (1922). A behavioristic study of the activity of the rat. *Journal of Comparative Psychology Monographs*, 1, 1-55.
- Rieger, E., Touyz, S. W., Swain, T. & Beumont, P. J. V. (2001). Cross-cultural research on anorexia nervosa: Assumptions regarding the role of body weight. *International Journal of Eating Disorders*, 29, 205-215.
- Roberts, J. E., Gotlib, I. H. & Kassel, J. D. (1996). Adult attachment security and symptoms of depression: the mediating roles of dysfunctional attitudes and low self-esteem. *Journal of Personality and Social Psychology*, 70 (2), 310-20.
- Robertson, J. & Bowlby, J. (1952), Responses of young children to separation from their mothers. *Courier of the International Children's Centre, Paris*, II, 131-140.
- Romero, L. M. & Sapolsky, R. M. (1996). Patterns of ACTH secretagog secretion in response to psychological stimuli. *Journal of Neuroendocrinology*, 8, 243-258.

- Root, M. P. & Fallon, P. (1988). The incidence of victimization experiences in a bulimic sample. *Journal of interpersonal violence*, 3, 161-173.
- Routtenberg, A. (1968). Self-starvation of rats living in activity wheels: Adaptation effects. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 66 (1), 234-238.
- Routtenberg, A. & Kuznesof, A. (1967). Self-starvation of rats living in activity wheels on a restricted feeding schedule. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 64 (3), 414-421.
- Russell, G. F. M. (1979) Bulimia nervosa: A ominous variant of anorexia nervosa. *Psychological Medicine*, 9, 429-449.
- Russell, G. F. M. (1984). The modern history of anorexia nervosa. *Aktuelle Ernährungs-Medizin*, 9, 3-7
- Russell, G. F. M. (1985). The changing nature of anorexia nervosa: An introduction to the conference. *Journal of Psychiatric Research*, 19, 101-109.
- Russell, G. F. M. (1995). Anorexia nervosa through time. En G. Szmuckler, C. Dare & J. Treasure (Eds.), *Handbook of eating disorders: Theory, treatment and research* (pp. 5-17). New York: Wiley.
- Russell, G. F. M. (2003). La esencia de la anorexia nerviosa: evaluación histórica y síntomas principales. En L. Rojo & G. Cava (Eds.), *Anorexia nerviosa* (pp. 13-25). Barcelona: Ariel.
- Russell, G. F. M. & Treasure, J. (1989). The modern history of anorexia nervosa. An interpretation of why the illness has changed. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 575, 13-27.
- Russek, L. G. & Schwartz, G. E. (1997). Feelings of parental care predict health status in midlife: A 35 year follow-up of the Harvard Mastery of Stress. *Journal of Behavior Medicine*, 20, 1-11.
- Rutter, M. (1985). Resilience in the face of adversity: Protective factors and resistance to psychiatric disorder. *British Journal of Psychiatry*, 147, 598-611.
- Rutter, M. & O'Connor, T. G. (1999). Implications of attachment theory for child care policies. En J. Cassidy & P. R. Shaver (Eds.), *Handbook of*

*attachment: Theory, research, and clinical applications* (pp. 823-843).  
New York: The Guilford Press.

Ryle, J. A. (1936). Anorexia nervosa. *Lancet*, 2, 892-894.

Salzman, J. P. (1997). Ambivalent attachment in female adolescents: Association with affective instability and eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 21, 251-259.

Sapolsky, R. M. (1995). *¿Por qué las cebras no tienen úlceras?: la guía del estrés*. Madrid: Alianza.

Sapolsky, R. M. (1996). Why stress is bad for your brain. *Science*, 273, 749-750.

Sapolsky, R. M. (1997). The importance of a well-groomed child. *Science*, 277, 1620-1621.

Schmidt, U. H., Humfress, H. & Treasure, J. L. (1997). The role of general family environment and sexual and physical abuse in the origins of eating disorders. *European Eating Disorders Review*, 5(3), 184-207.

Schmidt, U. H., Tiller, J. M., Andrews, B., Blanchard, M. & Treasure, J. L. (1997). Is there a specific trauma precipitating the onset of anorexia nervosa? *Psychological Medicine*, 27, 523-530.

Schore, A. (2001). The effects of a secure attachment relationship on right brain development, affect regulation, and infant mental health. *Infant Mental Health Journal*, 22, 7-66.

Schultz, L. A. & Lore, R. K. (1993). Communal reproductive success in rats (*Rattus norvegicus*): Effects of group composition and prior social experience. *Journal of Comparative Psychology*, 107 (2), 216-22.

Seay, B. M. & Harlow, H. F. (1965). Maternal separation in the Rhesus monkeys. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 140, 434-441.

Seyle H. (1936). Thymus and adrenals in the response of the organism to injuries and intoxication. *British Journal of Experimental Pathology*, 17, 234-248.

Shapiro, K. J. (2004). Animal model research: The apples and oranges quandary. *Alternatives to Laboratory Animals*, 32, (Suppl. 1), 405-409.

- Sharpe, T. M., Killen, J. D., Bryson, S. W., Shisslak, C. M., Estes, L. S., Gray, N., Crago, M. & Taylor, C. B. (1998). Attachment style and weight concerns in preadolescent and adolescent girls. *International Journal of Eating Disorders*, 23, 39-44.
- Sherwin, C. M. (1998). Voluntary wheel running: A review and novel interpretation. *Animal Behaviour*, 56, 11-27.
- Sherwin, C. M. (1999). Le curieux manège du hamster. *La Recherche*, 321, 74-77.
- Shimizu, N., Oomura, Y. & Kai, Y. (1989). Stress-induced anorexia in rats mediated by serotonergic mechanisms in the hypothalamus. *Physiology and Behavior*, 46 (5), 835-841.
- Siegfried, Z., Berry, E. M., Hao, S. & Avraham, Y. (2003). Animal models in the investigation of anorexia. *Physiology and Behavior*, 79, 39-45.
- Skodol, A. E., Siever, L. J., Livesley, W. J., Gunderson, J. G., Pfohl, B. & Widiger, T. A. (2002). The borderline diagnosis II: Biology, genetics, and clinical course. *Biological Psychiatry*, 51 (12), 951-63.
- Slade, P. D. (1973). A short anorectic behaviour scale. *British Journal of Psychiatry*, 122, 83-85.
- Slotten, H. A., Kalinchev, M., Hagan, J., Marsden, C. A. & Fone, K. C. F. (2006). Long-lasting changes in behavioural and neuroendocrine indices in the rat following neonatal maternal separation: Gender dependent effects. *Brain Research*, 1097, 123-132.
- Smith, G. P. (1989). Animal-models of human eating disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 575, 63-74.
- Smith, D. K., Ovesen, L., Chu., R., Sackel, S. & Howard, L. (1983). Hypothermia in a patient with anorexia nervosa. *Metabolism*, 32, 1151-1154.
- Smolak, L. & Levine, M. P. (1993). Separation-individuation difficulties and the distinction between bulimia nervosa and anorexia nervosa in college women. *International Journal of Eating Disorders*, 14, 33-41.

- Smolak, L., Murnen, S. K., & Ruble, A. E. (2000). Female athletes and eating problems: A meta-analysis. *International Journal of Eating Disorders, 27*, 371–380.
- Spear, N. E. & Hill, W. F. (1962). Methodological note: Exercise weight loss in rats living in activity wheels. *Psychological Reports, 11*, 437-438.
- Spitz, R. A. (1945). Hospitalism. An inquiry into the psychiatric conditions in early childhood. *The Psychoanalytic Study of the Child, 1*, 53.
- Spitz, R. A. (1946). Anaclitic depression. *The Psychoanalytic Study of the Child, 2*, 313.
- Sund, A. M. & Wichstrøm, L. (2002). Insecure attachment as a risk factor for future depressive symptoms in early adolescence. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, 41* (12), 1478-85.
- Sundgot-Borgen, J. (1994). Risk and trigger factors for the development of eating disorders in female elite athletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 26*, 414-419.
- Suomi, S. J. (1999). Attachment in Rhesus monkeys. En J. Cassidy & P. R. Shaver (Eds.), *Handbook of attachment: Theory, research, and clinical applications* (pp. 181-197). New York: The Guilford Press.
- Taconic Farms, Inc. (2006). *Mouse and rat models. Traditionally outbred rats. Sprague Dawley. Growth chart*. Recuperado el 15 de enero de 2007, de <http://www.taconic.com/wmspage.cfm?parm1=740>
- Tennes, K. & Mason, J. (1982). Developmental psychoendocrinology: An approach to the study of emotions. En Izard (Ed.). *Measuring emotions in infants and children*. New York: Cambridge University Press.
- Tokuyama, K., Saito, M. & Okuda, H. (1982). Effects of wheel running on food intake and weight gain of male and female rats. *Physiology and Behavior, 28*, 899-903.
- Toro, J. (1996). *El cuerpo como delito: Anorexia, bulimia, cultura y sociedad*. Barcelona: Ariel.
- Toro, J. (2004). *Riesgo y causas de la anorexia nerviosa*. Barcelona: Ariel.

- Touyz, S. W., Beumont, P. J. V. & Hook, S. (1987). Exercise anorexia: A new dimension in anorexia nervosa. En P. J. Beumont, G. D. Burrows & R. C. Casper (Eds.), *Handbook of eating disorders, Part 1, Anorexia and Bulimia Nervosa* (pp. 143-157). Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
- Troisi, A., Massaroni, P. & Cuzzolaro, M. (2005). Early separation anxiety and adult attachment style in women with eating disorders. *British Journal of Clinical Psychology, 44*, 89-97.
- Troisi, A., Di Lorenzo, G., Alcini, S., Nanni, R. C., Di Pasquale, C. & Siracusano, A. (2006). Body dissatisfaction in women with eating disorders: relationship to early separation anxiety and insecure attachment. *Psychosomatic Medicine, 68*, 449-483.
- Tsuda, A., Tanaka, M., Jimori, K., Ida, Y. & Nagasaki, N. (1981). Effects of divided feeding on activity-stress ulcer and the thymus weight in the rat. *Physiology and Behavior, 27*, 349-353.
- Vähäsöini, A., Vázquez, R., Birmingham, C. L. & Gutiérrez, E. (2004). Unreported sauna use in anorexia nervosa: evidence from the world-wide-web. *Eating and Weight Disorders, 9*, 50-55.
- Vallée, M., Mayo, W., Dellu, F., Le Moal, M., Simon, H., & Maccari, S. (1997). Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *The Journal of neuroscience, 17*, 2626-2636.
- Vallée, M., Mayo, W., Maccari, S., Le Moal, M., & Simon, H. (1996). Long-term effects of prenatal stress and handling on metabolic parameters: relationship to corticosterone secretion response. *Brain Research, 712*, 287-292.
- Vandereycken, W., & van Deth, R. (1989). Who was the first to describe anorexia nervosa: Gull or Lasègue? *Psychological Medicine, 19*, 837-845.
- Vázquez, R., Carrera, O., Birmingham, C. L. & Gutiérrez, E. (2006). Exploring the association between anorexia nervosa and geographical latitude. *Eating and Weight Disorders, 11*, e1-e8

- Viau, V., Sharma, S., Plotsky, P. M. & Meaney, M. (1993). Increased plasma ACTH responses to stress in *nonhandled* compared with *handled* rats require basal levels of corticosterone and are associated with increased levels of ACTH secretagogues in the median eminence. *The Journal of Neuroscience*, 13 (3), 1097-1105.
- Vincent, G. P. & Paré, W. (1976). Activity-stress ulcer in the rat, hamster, gerbil and guinea pig. *Physiology and Behavior*, 16, 557-560.
- von Hoersten, S., Dimitrijevic, M., Marcovic, B. M. & Janovic, B. D. (1993). Effect of early experience on behaviour and immune response in the rat. *Physiology and Behavior*, 54, 931-940.
- Vythilingam, M., Heim, C., Newport, J., Miller, A. H., Anderson, E., Bronen, R., Brummer, M., Staib, L., Vermetten, E., Charney, D. S., Nemeroff, C. B. & Bremner, J. D. (2002). Childhood trauma associated with smaller hippocampal volume in women with major depression. *American Journal of Psychiatry*, 159, 2072-2080.
- Wakeling, A. & Russell G. F. M. (1970). Disturbances in the regulation of body temperature in anorexia nervosa. *Psychological Medicine*, 1, 30-39.
- Waller, G. (1992). Sexual abuse and the severity of bulimic symptoms. *British Journal of Psychiatry*, 161, 90-93.
- Waller, J., Kaufman, R. & Deutsch, F. (1940). Anorexia nervosa: a psychosomatic entity. En R. Kaufman (Ed.), *Evolution of psychosomatic concepts. Anorexia nervosa: A paradigm* (1965), (pp. 245-273). London: The Hogart Press.
- Wallet, H. (1892). Deux cas d'anorexie hystérique. *Nouvelle Iconographie de la Salpêtrière*, 5, 276-280.
- Walters, E. E. & Kendler, K. S. (1995). Anorexia nervosa and anorexic-like syndromes in a population-based female twin sample. *American Journal of Psychiatry*, 152, 64-71.
- Ward, A., Ramsay, R., Turnbull, S., Benedettini, M. & Treasure, J. (2000). Attachment patterns in eating disorders: Past in the present. *International Journal of Eating Disorders*, 28 (4), 370-6.

- Watanabe, K., Hara, C. & Ogawa, N. (1990). Relationship between running activity rhythm and the development of activity-stress ulcer in rats. *Japan Journal of Pharmacology*, 52, 421-429.
- Watanabe, K., Hara, C. & Ogawa, N. (1992). Feeding conditions and estrous cycle of female rats under the A-S stress procedure from aspects of anorexia nervosa. *Physiology and Behavior*, 51, 827-832.
- Waters, E., Weinfield, N. & Hamilton, C. E. (2000). The stability of attachment security from infancy to adolescence and early adulthood: General discussion. *Child Development*, 71, 703-706.
- Weaver, W., Diorio, J., Seckl, J. R., Szyf, M. & Meaney, M. (2004). Early environmental regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene expression: Characterization of intracellular mediators and potential genomic target sites. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1024, 182-212.
- Weininger, O. (1954). Physiological damage under emotional stress as a function of early experience. *Science*, 119, 285-286
- Wheeler, G. (1996). Exercise, sports, and anorexia. En W. F. Epling & W. D. Pierce, (Eds.), *Activity Anorexia. Theory, research, and treatment*, (pp.159-175). New Jersey: LEA.
- Wigger, A. & Neumann, I. D. (1999). Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and neuroendocrine responses to emotional stress in adult rats. *Physiology and Behavior*, 66, 293-302.
- Williams, P. & King, M. (1987). The 'epidemic' of anorexia nerviosa: Another medical myth? *The Lancet*, 24, 205.
- Yates, A. (1991). *Compulsive exercise in the eating disorders: Toward an integrated theory of activity*. New York: Bruner-Mazel.
- Yates, A., Leehey, K & Shisslak, C. M. (1983). Running- an analogue of anorexia? *New England Journal of Medicine*, 308, 251-255.
- Yi, I. & Stephan, F. K. (1996). Body fat reserves attenuate gastric ulcers induced by restricted feeding in rats. *Physiology and Behavior*, 59, 931-936.



- Zaharia, M., Shanks, N., Meaney, M. & Anisman. (1996). The effects of postnatal handling on Morris water maze acquisition in different strains of mice. *Psychopharmacology*, 128, 227-239.
- Zeijlmans van Emmichoven, I. A., van Ijzendoorn, M. H., de Ruiter, C. & Brosschot, J. F. (2003). Selective processing of threatening information: Effects of attachment representation and anxiety disorder on attention and memory. *Development and Psychopathology*, 15 (1), 219-37.
- Zipfel, S., Specht, T. & Herzog, W. (1998). Medical complications of eating disorders. En H. W. Hoek, J. L. Treasure & M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the Treatment of Eating Disorders* (pp. 457-484). Chichester, England: Wiley.