

Efectos del estrés por inmovilización sobre respuestas aprendidas en ratas: cambios en respuestas de evitación de operante libre

Effects of immobilization induced stresses on Learned responses in rats: changes in free-operant avoidance responses

Jordi Fernández Castro y Margalida Coll Andreu

Universidad Autónoma de Barcelona

RESUMEN

Se entrenó a treinta ratas macho en una tarea de escape y evitación de descargas de apretar una palanca (aprendizaje de evitación no señalada de operante libre). Posteriormente se repartieron, al azar, en los siguientes grupos: 1) "Estrés después del descanso": Los sujetos de este grupo fueron sometidos a dos horas de inmovilización total 22 horas después de la última sesión de entrenamiento e inmediatamente después se realizó una sesión de entrenamiento e inmediatamente después se realizó una sesión de prueba de escape y evitación. Otras dos sesiones de prueba se realizaron 24 y 48 horas después de la aplicación del estrés por inmovilización. 2) "Estrés antes del descanso": En este grupo la inmovilización se realizó inmediatamente después de la última sesión de entrenamiento. Las sesiones de prueba se realizaron 24, 48 y 72 horas después de la aplicación del estrés: 3) "Control sin estrés": Se hicieron las mismas pruebas sin aplicar el estrés. Los resultados mostraron un déficit en la ejecución del escape y la evitación, con el consiguiente aumento de descargas recibidas. En el grupo 1 este déficit aumentó a lo largo de las sesiones de prueba.

DESCRIPTORES: Estrés, conducta de evitación, factores temporales.

ABSTRACT

After being trained to avoid/escape a shock by pressing a lever (nondiscriminated free-operant avoidance learning), 30 male rats were assigned to the following groups: 1) "stress after a period of rest": 22 h after the last acquisition session, rats in this group were sub-

Este trabajo ha podido realizarse en parte gracias a la ayuda No. 3216/83 de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica del Ministerio de Educación y Ciencia de España. Copias del presente trabajo pueden solicitarse al primer autor a: Laboratorio de Conducta. Apartado de Correos No. 29. Universidad Autónoma de Barcelona. 08198 - Bellaterra, España.

jected to two hours of immobilization stress and then tested. New tests were performed 24 and 48 h after the application of stress. 2) "stress before a period of rest": in this group, the stressor was administered immediately after the last acquisition sessions. Tests took place 24, 48 and 72 h. later. 3) Control without stress. Results indicate that stress induced a deficit in the performance of the avoidance/escape response and subsequent increases in the number of shocks received. In group 1 this deficit increased with the subsequent sessions.

DESCRIPTORS: Stress, avoidance behavior, time-dependent variations.

En un trabajo anterior (Fernández Castro y Coll, 1987) se pudo observar que el estrés por inmovilización afectaba a la ejecución de respuestas de escape y evitación de vaivén (*shuttle*) aprendidas antes de su aplicación. Este efecto se concretó en un enlentecimiento de la respuesta y en un alto porcentaje de ensayos sin evitación ni escape. Mientras que el retardo de la respuesta desapareció a lo largo de las sesiones de prueba, el porcentaje de ensayos sin ninguna respuesta aumentó con dichas sesiones en una condición concreta: cuando las sesiones de prueba se iniciaron sin demora después de la aplicación del estrés. Si estas sesiones de prueba comenzaban 24 horas después, entonces, a pesar que la ejecución en la primera sesión era similar a la de la condición anterior, no se observó ese aumento de número de ensayos sin respuestas a lo largo de las sesiones, sino todo lo contrario, su disminución.

En el campo de estudio sobre la influencia del estrés en la conducta de evitación ha prevalecido el uso de procedimientos de evitación señalada, en los que un estímulo de aviso marca el inicio de cada ensayo discreto (ver, por ejemplo, Seligman, Weiss, Weinraub y Schulman, 1980). En el presente trabajo nos proponemos replicar el estudio citado más arriba, pero usando un procedimiento de evitación de operante libre (Sidman, 1953) sin señal de aviso. Este procedimiento ofrece dos ventajas respecto a la evitación señalada, por un lado el número total de respuestas de evitación posibles no está *constreñido* por el número de ensayos programado sino que depende de la conducta del propio sujeto experimental; y por otro lado, al no usar señal de aviso, se simplifica la situación reduciendo el número de elementos del procedimiento. Una modificación que hemos introducido en el procedimiento habitual de evitación de operante libre es la introducción de una contingencia de escape, con el objeto de observar si el estrés afecta de la misma manera a la evitación que al escape.

METODO

Sujetos

Los sujetos fueron treinta ratas (*Rattus Norvegicus*) albinas de la cepa Wistar criadas en nuestro laboratorio. Estos animales fueron colocados en jaulas individuales cuatro días antes de iniciarse el experimento, momento en el cual su edad oscilaba entre los 90 y los 120 días y su peso entre 360 y 450 gramos.

Aparatos

Se utilizó una caja de material plástico transparente que restringía parcialmente los movimientos del animal. Sus dimensiones eran 8 cm de ancho, 14 cm de largo y 15 cm de alto. En su parte posterior, a lo ancho, estaba dispuesta una palanca a 7 cm. de altura. En la parte anterior había un orificio por donde podía salir la cola de la rata. Había una bombilla de 10 w. suspendida justo encima de la caja, todo ello estaba colocado en el interior de una caja de insonorización, provista de un extractor de aire que produciría un ruido de unos 60 dB. en el interior y que no permitía el paso de la luz exterior.

Una fuente de descargas "Lafayette Instruments" (modelo A615A) de corriente constante. La estimulación eléctrica se aplicó a los animales a través de dos electrodos colocados en el tercio anterior de la cola.

El control automático de la sesión y el registro de los datos se realizó mediante un ordenador Hewlett-Packatt-86 conectado al módulo de control de la caja de evitación.

Asimismo, se utilizaron unas plataformas de inmovilización según el modelo de Kvetnansky y Mikulaj (1970). Estas plataformas eran de 23 por 13.5 cm. de ancho y tenían cuatro barras cóncavas para colocar en ellas las patas del animal, atadas con cinta adhesiva, y de una anilla que limitaba parcialmente la movilidad de la cabeza de la rata.

Procedimiento

1a. fase: Moldeamiento y adquisición de la respuesta de escape y evitación. Esta fase se desarrolló a lo largo de tres sesiones consecutivas seguidas por dos días sin sesión experimental, y por otra sesión al quinto día. Las tres primeras sesiones estaban destinadas al moldeamiento de la respuesta de escape y evitación, y la cuarta, a la evaluación del nivel basal de ejecución de la respuesta.

En la primera sesión se aplicaban descargas de 0.3 mA. de intensidad y de 0.5 segundos de duración, cada 5 segundos (intervalo S-S: 5 segundos). Si se accionaba la palanca, se encendía, durante dos segundos, una bombilla suspendida sobre la caja, y se demora la descarga siguiente en 45 segundos (intervalo R-S: 45 segundos). En el caso de que se accionase la palanca durante la aplicación de una descarga, ésta cesaba (contingencia de escape).

El moldeamiento se realizó de la siguiente manera: Se inició la sesión administrando la descarga según el intervalo S-S 5 segs. ya mencionado, en cuanto la rata se colocaba de cara a la palanca, el experimentador accionaba esta palanca por su extremo posterior que sobresalía de la caja, con lo que la descarga se demoraba 45 segundos. Una vez aplicada la siguiente descarga se volvía a accionar manualmente la palanca siempre que el animal estuviese encarado hacia ella. A partir del momento en que el animal apretaba por primera vez la palanca, el experimentador dejaba de accionarla.

En la segunda sesión, se prosiguió con el moldeamiento siempre y cuando el sujeto no hubiese comenzado ya a apretar la palanca en la sesión anterior. En esta sesión el intervalo R-S fue de 25 segundos para todos los sujetos, mientras que en la tercera fue de 15.

Una vez finalizadas las sesiones de moldeamiento, se dejó dos días de descanso, después de la cual se realizó una sesión de 30 minutos de duración, sin intervención en ningún momento del experimentador, con un intervalo R-S de 45 segs. y con el resto del procedimiento tal y como ya se ha especificado.

2a. Fase: Inducción de estrés por inmovilización. Los sujetos fueron distribuidos al azar en los tres grupos siguientes:

- Grupo 1, *Estrés después del descanso.* Una vez finalizada la última sesión de la fase anterior, los animales de este grupo eran devueltos a su jaula habitual en donde permanecía 22 horas aproximadamente. Pasado este tiempo eran colocados en la plataforma de inmovilización durante 2 horas. Pasado este tiempo se iniciaba sin demora la fase siguiente.

- Grupo 2, *Estrés antes del descanso.* Los animales de este grupo fueron colocados durante dos horas en la plataforma de inmovilización inmediatamente después de haber finalizado la última sesión de la primera fase del experimento, una vez pasado este tiempo, eran devueltos a su jaula habitual en donde permanecían 22 horas aproximadamente, una vez pasado este tiempo, iniciaban la tercera fase del experimento.

- Grupo 3, *Control sin estrés.* Una vez finalizada la fase anterior, el animal era colocado en su jaula habitual por un periodo de 24 horas aproximadamente, pasado el cual iniciaba la tercera fase del experimento.

3a. Fase: Prueba del mantenimiento de las respuestas de escape y evitación. Esta fase constó de tres sesiones de treinta minutos cada una, realizadas a intervalos de 24 horas. En estas sesiones se siguió exactamente el mismo procedimiento que en la última sesión de la primera fase.

RESULTADOS

Adquisición de la respuesta de escape y evitación

Todos los sujetos comenzaron a apretar la palanca durante la primera sesión o bien al inicio de la segunda, de manera que, al finalizar ésta, la adquisición era completa por parte de todos los animales. Un análisis simple de la varianza no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos respecto a la última sesión de la primera fase ($F(2/27) = 1.64 p = 0.21$).

Efectos del estrés sobre el número de respuestas de evitación:

En la figura 1 se puede observar el número medio de respuestas de evitación para cada grupo experimental en cada una de las sesiones de la última fase. Se consideraron como tales las respuestas realizadas en los periodos de

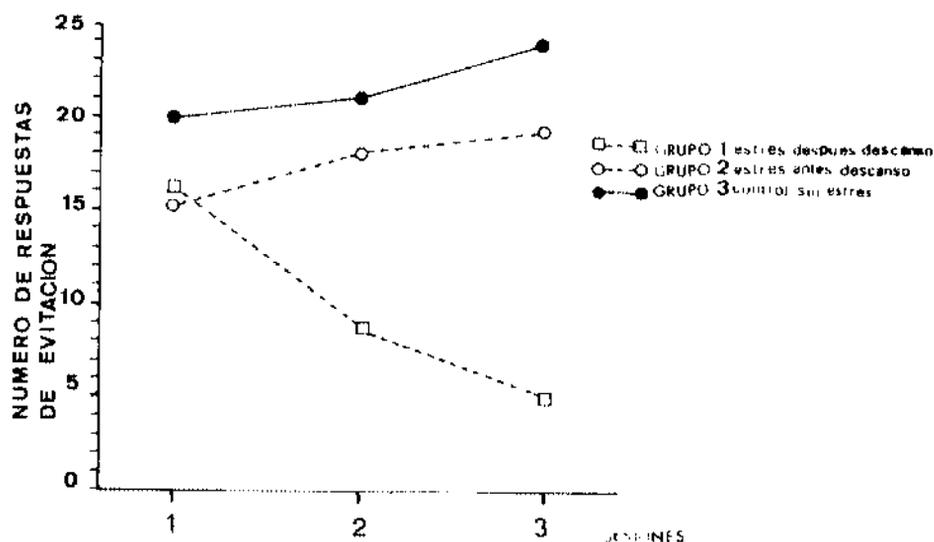


Figura 1. Promedio del número de respuestas de evitación en cada sesión de la fase de prueba para cada uno de los grupos.

tiempo libres de descarga. El análisis multivariante de la varianza (MANOVA) del paquete estadístico SPSSx (SPSS, Inc. 1983) mostró que había diferencias estadísticas significativas entre el número de respuestas de evitación del grupo control y el del grupo 1, "estrés después del descanso", ($F(1/27) = 10.76$; $p = 0.003$), así como entre el grupo control y el grupo 2, "estrés antes del descanso", ($F(1/27) = 4.33$; $P = 0.047$).

El factor sesión, tomado para el conjunto de la muestra, no mostró diferencias significativas entre las tres sesiones de la última fase. Sin embargo, la interacción entre grupos y sesiones sí que era significativa. Este efecto se debió a la existencia de diferencias significativas entre el grupo 1, "estrés después del descanso", y el control en la comparación entre la primera y la segunda sesión ($t = 2.14$; $P = 0.041$). La interacción sesión X grupo también resultó significativa entre el grupo 2, "estrés antes del descanso" y el control ($t = -2.19$; $P = 0.037$).

Número de descargas

El análisis del número medio de descargas recibidas por cada grupo de sujetos muestra un patrón paralelo al del número de respuestas de evitación (ver figura 2). Los animales del grupo control evitaron alrededor del 50% de las descargas; los del grupo 2 "estrés antes del descanso", alrededor del 40%, con una clara tendencia a evitar más descargas a medida que pasaban las sesiones. En cambio, los del grupo 1, "estrés después del descanso", evitaron tan sólo alrededor del 32% de las descargas en la primera sesión, y tendieron

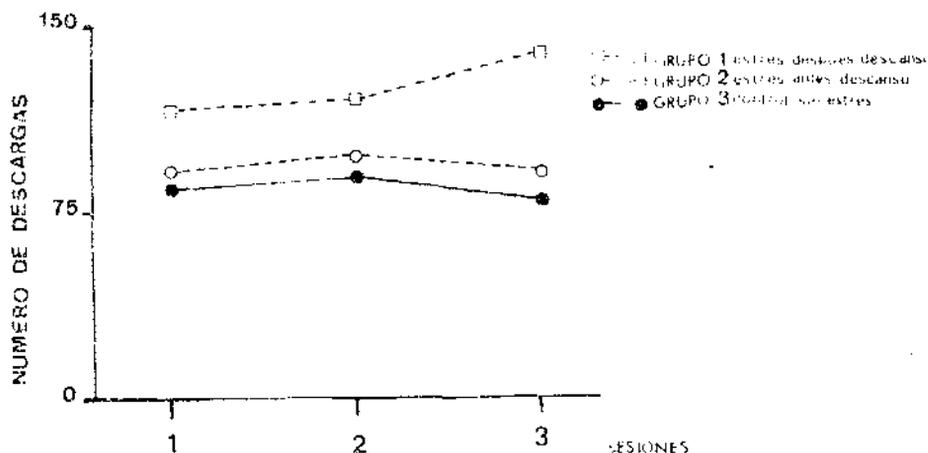


Figura 2. Promedio de descargas recibidas en cada una de las sesiones de la fase de prueba para cada uno de los grupos.

a disminuir el número de descargas evitadas en las siguientes sesiones, de manera que en la tercera sesión sólo evitaron un 20% de las descargas.

El MANOVA aplicado mostró que había diferencias significativas entre el grupo 1 y el control ($F(1/27) = 13.10$; $p = 0.001$), y entre los grupos 1 y 2 ($F(1/27) = 4.78$; $p = 0.037$). También se halló una interacción significativa entre los factores grupo y sesión, causadas por la comparación entre la primera y la última sesiones, que mostró diferencias significativas entre el grupo 1 y el control ($t = -2$; $P = 0.05$) y entre los grupos 1 y 2 ($t = 2.34$; $P = 0.027$).

Respuestas de escape

Para analizar el número de respuestas de escape, se calculó el porcentaje de descargas ante las que no se realizó ninguna respuesta (ver figura 3), puesto que el número de descargas recibidas por los diferentes sujetos no era el mismo.

El análisis estadístico (MANOVA) de estos datos puso de manifiesto que los sujetos del grupo 1 recibieron un porcentaje de descargas sin escape claramente superior al del grupo 2 ($F(1/27) = 6$; $p = 0.02$) y al del grupo control ($F(1/27) = 9.87$; $p = 0.004$).

En cuanto al efecto de las sesiones, se pudo constatar que el grupo de control no mostró diferencias a lo largo de las sesiones ($F(1/27) = 3.57$; $P = 0.43$), por lo que las diferencias significativas ligadas al factor sesión se deben fundamentalmente a la interacción grupo X sesión: la comparación entre la segunda y tercera sesiones mostró diferencias entre el grupo control y los grupos 1 ($t = 2.41$; $p = 0.023$) y 2 ($t = 2.10$; $p = 0.04$).

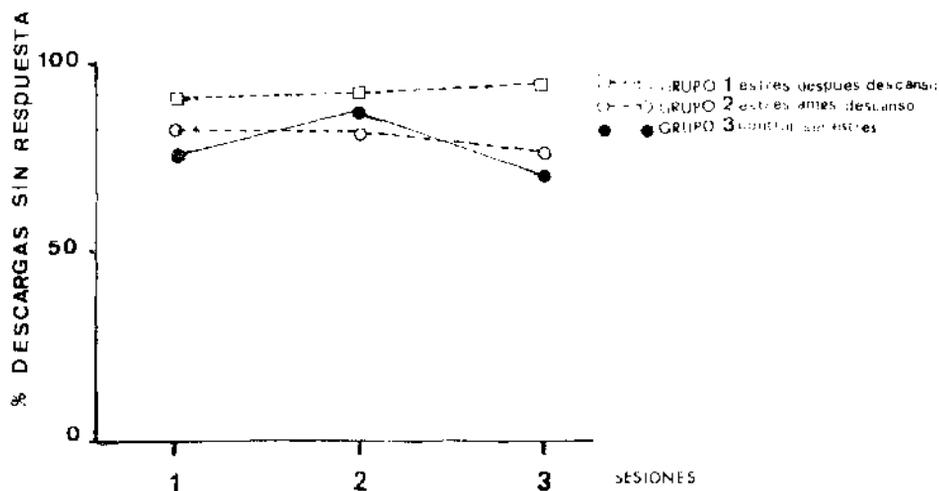


Figura 3. Promedio del porcentaje de descargas sin respuesta de escape en cada una de las sesiones de la fase de prueba para cada uno de los grupos.

DISCUSION

Hemos podido comprobar que el estrés por inmovilización reduce el número de respuestas, tanto de evitación como de escape, y hace que aumente el número de descargas recibidas. Este deterioro aumenta progresivamente en sesiones de prueba consecutivas en el caso que éstas empiecen justo inmediatamente después de la aplicación del estrés y disminuye cuando hay un intervalo de 22 horas entre el final de la inmovilización y el principio de la primera sesión de prueba.

Un hecho remarcable es que apenas hay diferencias entre los déficits en la ejecución hallados inmediatamente después o tras casi un día de descanso. Esto nos indica dos cosas: la primera es que los resultados observados en las sesiones siguientes no se deben únicamente a los efectos directos del estrés, puesto que de ser así tendríamos que haber observado una disminución progresiva en el tiempo de dichos efectos. La segunda es que la pobre ejecución en la última sesión del grupo de estrés después del descanso no puede ser atribuida al número de descargas recibidas en la primera sesión.

Aunque la ejecución de esta tarea de evitación y escape aprendida previamente sea similar ya se realice inmediatamente después de haber sido aplicado el estrés o con un descanso de 22 horas, parece que los animales que han tenido que ejecutar esta conducta de afrontamiento, la evitación y el escape, bajo los efectos inmediatos del estrés manifiestan ciertos déficits en la ejecución de sesiones posteriores. Por esta razón, tenemos la impresión que, aunque el déficit que hemos observado se puede deber al curso temporal de factores no asociativos, en la línea de los modelos de Anisman (1975) o de LoLordo y Randich (1981), esta evolución temporal se ve afectada por

el hecho de que el animal tenga que realizar las respuestas de escape y evitación en un momento u otro y no únicamente a la cantidad de estimulación aversiva recibida y al tiempo que ha pasado desde su aplicación.

En un experimento anterior (Fernández Castro y Coll, 1987) al que ya hemos aludido, hallamos que el estrés por inmovilización afectaba a largo plazo al número de ensayos sin ninguna respuesta, y a corto plazo a la latencia de respuesta. Esto podía dar pie a suponer que el estrés afecta de forma diferencial a componentes distintos de una conducta de escape y evitación ya aprendida; sin embargo, en el presente trabajo el efecto del estrés sobre la evitación es del mismo sentido que el efecto sobre el escape. Esta discrepancia se debe, muy posiblemente, a la existencia de una señal de aviso previa a la descarga en el procedimiento del experimento anterior, de todas maneras ésta cuestión requeriría un estudio específico y es difícil de dilucidar exclusivamente con los datos que tenemos ahora en la mano.

En resumen, lo que hemos podido comprobar es que los factores asociativos y los no asociativos están relacionados de manera *intrincada* y que son difíciles de separar las consecuencias de cada grupo de factores sobre la ejecución de una respuesta. Este hecho lo han puesto también de manifiesto, con otro tipo de procedimiento, Wade y Maier (1986). También hemos podido apreciar que la gravedad y la duración del deterioro en la conducta de evitación provocado por el estrés, están mediatizados por lo que tenga que hacer el sujeto después de la aplicación del estrés, en este sentido es especialmente importante que el animal tenga que hacer respuestas de escape y evitación bajo los efectos inmediatos del estrés, independientemente que el resultado de esta conducta, la disminución de la estimulación aversiva, sea mejor o peor.

REFERENCIAS

- Anisman, H. (1975). Time-dependent variations in aversively motivated behaviors: non-associative effects of cholinergic and catecholaminergic activity. *Psychological Review*, 82 (5), 359-485.
- Fernández Castro, J. y Coll, M. (1987). Efectos del estrés por inmovilización sobre respuestas aprendidas en ratas: 1. Cambios en respuestas de evitación señaladas. *Revista Mexicana de Analisis de la Conducta*. en prensa.
- Kvetnansky, R. y Mikulaj, L. (1970). Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress. *Endocrinology*, 87, 738-743.
- Lolordo, V. M. y Randich, R. (1981). Effects of exposure of electric shock upon subsequent conditioning of an emotional response: Associative and non-associative mechanisms. En P. Harzen y M. D. Zeilar (Eds.), *Advances in Analysis of Behaviour: 2. Predictability, correlation and contingency*. New York, Wiley, 247-285.
- Seligman, M. E. P.; Weiss, J. M.; Weinraub, M. y Schulman, A. (1980). Coping behavior, learned helplessness, physiological change, learned inactivity. *Behaviour Research and Therapy*, 18, 459-512.
- Sidman, M. (1953) Two temporal parameters of the maintenance of avoidance behavior by the white rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 46, 253-261.
- Wade, S. E. y Maier, S. F. (1986). Individual housing and cholinergic agonist treatments interact to produce a specific spatial learning deficit in laboratory rats. *Learning and Motivation* 17, 287-310.