

## Efectos del estrés por inmovilización sobre respuestas aprendidas en ratas: 1. Cambios en respuestas de evitación señalada

*Effects of immobilization induced stress on Learned responses in rats:  
1. changes in signaled-avoidance responses*

Jordi Fernández Castro y Margalida Coll Andreu.

Universidad Autónoma de Barcelona

### RESUMEN

Se entrenó a trece ratas machos en una tarea de escape y evitación señalada de vaivén. 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 prueba de escape y evitación. Una segunda sesión de prueba se hizo 72 horas después. 2) "Estrés antes del descanso": En este grupo, la inmovilización se realizó inmediatamente después de la última sesión de entrenamiento. Se realizaron sendas sesiones de prueba 22 y 94 horas después del final de la inmovilización. 3) "Control sin estrés". Se hicieron las mismas sesiones de prueba sin aplicar la inmovilización. Los resultados mostraron un déficit en la respuesta provocado por el estrés. El curso temporal de dicho déficit fue distinto en cada uno de los dos grupos experimentales, mientras que en el grupo 1 aumentó en la segunda sesión, en el grupo 2 hubo una recuperación de la respuesta en la segunda sesión.

DESCRIPTORES: Estrés, conducta de evitación, factores temporales.

### ABSTRACT

*After being taught a two-way avoidance/escape response in a Shuttlebox, 13 male rats were randomly assigned to one of the following groups: 1) "stress after a period of*

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 AUTONOMA DE BARCELONA. 08193- Bellaterra. ESPAÑA.

*rest*": 22 h. after the last acquisition session, rats in this group were subjected to two hours of immobilization stress and then tested in the shuttle-box. A new test took place 72 h. later. 2) "stress before a period of rest": in this group, the stressor was administered immediately after the last acquisition session. Animals were tested after 22 and 94 h. 3) "control": no stress was administered. Results showed a stress-induced response deficit. The time course of this deficit differed between the two experimental groups, being more marked in group 2 during the second test, while group 2 showed a recovery during that test.

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

Es bien sabido que la inducción de estrés agudo provoca, con carácter inmediato, cambios neuroquímicos, hormonales y conductuales. Algunos de estos efectos persisten durante un cierto tiempo una vez finalizada la aplicación de la fuente de estrés.

Algunos de los cambios conductuales, relativamente persistentes, que se han podido observar en ratas son: anorexia (Pare, 1965; Sterrit y Semberg, 1983), reducción de la interacción social (Armario, Ortiz y Balasch, 1933), anhedonia (Trullàs, 1986), reducción de la actividad espontánea, como exploración, autolimpieza y otras conductas similares (Roth y Katz, 1979; Ritter, 1978; Stone, 1978), incapacidad para aprender respuestas de evitación (Seligman y Beagley, 1975) y analgesia (Jackson, Maier y Coon, 1979). Todas estas alteraciones provocadas por el estrés están relacionadas bien con conductas consumatorias, como comer, bien con conductas reforzantes en sí mismas, como explorar, o bien con el aprendizaje de nuevas respuestas. Sin embargo, es bien poco lo que sabemos acerca del efecto del estrés agudo sobre respuestas instrumentales ya aprendidas. Este es, precisamente, el objetivo del presente trabajo: evaluar el impacto del estrés agudo, inducido por inmovilización, en respuestas de evitación señalada de vaivén aprendidas con anterioridad.

## METODO

### *Sujetos*

Los sujetos fueron trece ratas (*Rattus Norvegicus*) 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 112 días, y su peso medio era de 470 grs.

### *Material*

Se utilizó una jaula de escape-evitación Campden modelo 450, de 43.5 cm. de longitud, 20.7 de altura y 23.1 de anchura en su parte interior. El piso de esta jaula estaba constituido por 33 barras cilíndricas de 0.4 cm. de diáme-

tro; el eje transversal de esta reja basculaba cada vez que el animal cruzaba la caja en sentido longitudinal. La jaula estaba colocada en el interior de una caja de insonorización provista de un extractor que producía un ruido de unos 60 dB. en el interior de la caja.

La descarga eléctrica estaba producida por un generador de corriente continua de onda cuadrada. Los impulsos generados eran de corriente constante hasta una resistencia de 250 kM. Un *scrambler* invertía la polaridad de los pulsos a una velocidad de 25 c/s. y la corriente se administraba por medio del piso de la caja.

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: adquisición de la respuesta de escape y evitación.* Todos los animales pasaron por una primera fase de aprendizaje de una tarea de escape y evitación con señal de aviso y ensayos discretos tipo vaivén (Shuttle). Esta fase consistió en cuatro sesiones de 10 ensayos cada una separadas por intervalos de 24 h. entre ellas. La señal de aviso consistía en un tono de 240 Hz. y 80 dB, y su duración era de 10 segundos. El estímulo aversivo era una descarga eléctrica de corriente constante de 1 mA. de intensidad y cuya duración llegaba hasta los 20 segundos si no se realizaba la respuesta de escape. Los intervalos entre ensayo y ensayo oscilaban entre 70 y 90 segundos. Si el animal pasaba de un lado a otro de la jaula durante la presentación de la señal de aviso, ésta finalizaba y no se presentaba la descarga, siendo contabilizada una respuesta de evitación.

2a. fase: Inmovilización. Una vez finalizada la cuarta sesión, los animales fueron asignados al azar a los siguientes grupos:

—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 en donde permanecían durante un periodo aproximado de 22 h. Pasado este tiempo, eran colocados en la plataforma de inmovilización durante un periodo de dos horas, después del cual eran colocados en la caja de vaivén, iniciándose así la última fase.

—Grupo 2, "*Estrés antes del descanso*": los animales de este grupo eran colocados en la plataforma de inmovilización inmediatamente después del final de la última sesión de la fase anterior. El tiempo de permanencia en la plataforma era también de dos horas, pasadas las cuales los sujetos eran devueltos a sus jaulas, en donde permanecían hasta el momento del inicio de la siguiente fase, unas 22 h. más tarde, aproximadamente.

—Grupo 3, “Control sin estrés”: una vez finalizada la 1a. fase, los animales de este grupo eran devueltos a su jaula, en donde permanecían hasta el inicio de la última fase, unas 24 h. más tarde;

3a. fase prueba del mantenimiento de la respuesta de escape y evitación. Esta última fase consistió en dos sesiones de escape y evitación de características idénticas a las realizadas en la primera fase, pero con la particularidad que se dejó un intervalo de 72 h. entre ellas. De esta manera, el grupo 1 (“estrés después del descanso”) fue sometido a la primera sesión de esta fase inmediatamente después de la inmovilización forzada, y a la segunda sesión, unas 72 h. después. En cambio, los animales del grupo 2 (“estrés antes del descanso”) se sometieron a la primera sesión de esta fase unas 22 h. después de dicha inmovilización, y a la segunda, unas 94 h. después.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la fase 3 del experimento, así como los de la cuarta sesión de la primera (tomados como valores de línea base) se detallan a continuación. El tratamiento estadístico de todos ellos se realizó mediante análisis multivariante de varianza (MANOVA) del paquete estadístico SPSS (SPSS Inc, 1983), para comparar a la vez las diferencias entre las sesiones y entre los grupos.

### Número de respuestas de evitación.

El número medio de respuestas de evitación efectuadas por los animales de los dos grupos que recibieron estrés fue inferior al de los sujetos del grupo control en las dos sesiones de la tercera fase. Los análisis estadísticos pusie-

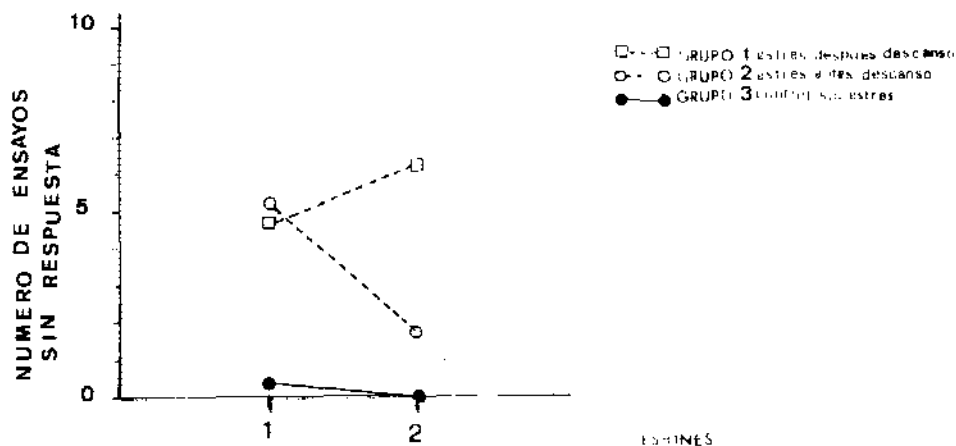


Figura 1. Número de respuestas de evitación en las dos sesiones de la fase de prueba para cada uno de los grupos.

ron de manifiesto que, tanto las diferencias entre el grupo control y el grupo 1 ( $F(1/10) = 11.54$ ;  $P = 0.007$ ), como las diferencias entre el control y el grupo 2 ( $F(1/10) = 8.63$ ;  $P = 0.015$ ) eran significativas (ver figura 1).

#### *Número de ensayos sin respuesta;*

En algunos de los ensayos, hubo sujetos que no realizaron respuestas de ningún tipo, ni de evitación ni de escape. Se consideró, entonces, que el análisis del número de ensayos sin respuesta podía ser interesante por sus posibles implicaciones. Por otra parte, esta medida resulta más adecuada que la medida del número de respuestas de escape, y que éstas últimas dependen del número de respuestas de evitación que realice el sujeto.

El análisis del número de ensayos sin respuesta mostró que éstos fueron significativamente más numerosos en los dos grupos que recibieron estrés que en el grupo control (para las diferencias entre el grupo 1 y el de control:  $F(1/10) = 30.47$ ;  $P = 0.001$ ; para las diferencias entre el grupo 2 y el control:  $F(1/10) = 11.88$ ;  $P = 0.006$ ; Ver Figura No. 2).

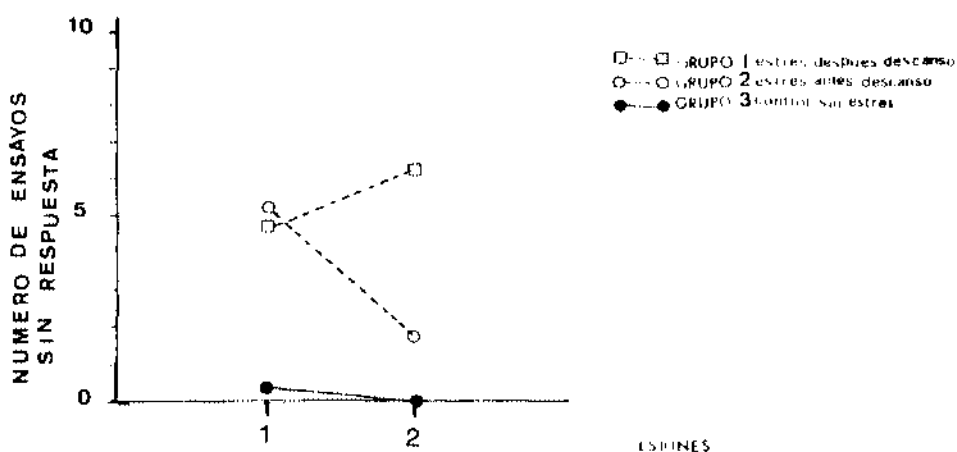


Figura 2. Número de ensayos sin respuesta de evitación ni de escape en las dos sesiones de la fase de prueba para cada uno de los grupos.

Además, el análisis de la interacción entre el factor sesión y el factor grupo puso de manifiesto que, para los animales del grupo 1, el número de ensayos sin respuesta fue mayor en la segunda sesión posterior al estrés que en la primera, aunque en los dos casos la comparación con el grupo control mostró diferencias significativas (primera sesión de la tercera fase:  $F(1/10) = 4.59$ ;  $P = 0.5$ ; segunda sesión:  $F(1/10) = 12.84$ ;  $P = 0.005$ ). Sin embargo, en el grupo 2 las diferencias respecto al grupo control sólo resultaron significativas en la primera sesión ( $F(1/10) = 56.18$ ;  $P = 0.001$ ), pero no así en la segunda ( $F(1/10) = 1.60$ ;  $P = 0.235$ ).

### Latencias de las respuestas

El análisis de las latencias de las respuestas se realizó basándose exclusivamente en los datos de los ensayos en los que hubo alguna respuesta, ya fuera de evitación, ya de escape, puesto que adjudicar un valor máximo, arbitrario, de latencia a estos ensayos alteraría artificialmente los datos, especialmente en este caso, en que el número de ensayos sin respuesta varió según las sesiones y los grupos.

Las latencias de respuesta del grupo 1 fueron más altas (ver figura no. 3)

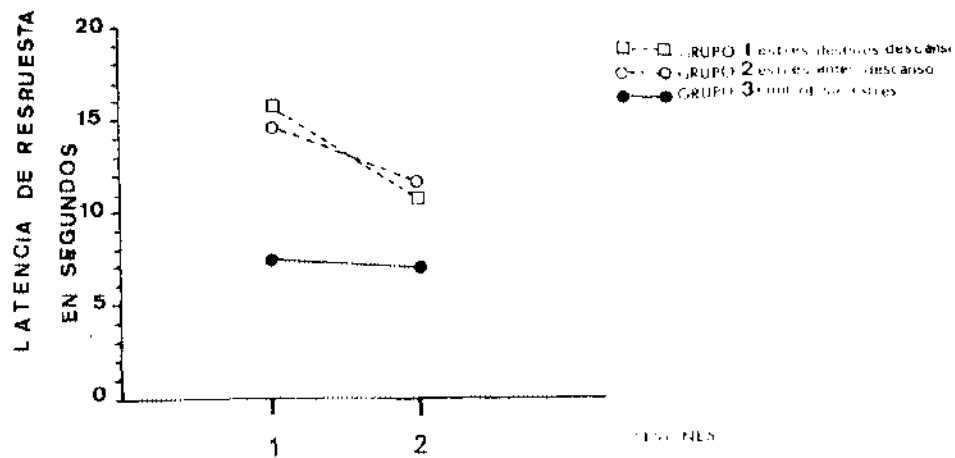


Figura 3. Promedio de las latencias de respuesta, excluidos los ensayos sin respuesta, en las dos sesiones de la fase de prueba para cada uno de los grupos.

que las del grupo control ( $F(1/10) = 6.22$ ;  $P = 0.034$ ). Analizando la interacción Sesión X Grupo, se obtuvo una diferencia significativa entre los dos grupos sólo para la primera sesión posterior al estrés ( $F(1/10) = 5.38$ ;  $P = 0.045$ ), pero no así para la segunda ( $F(1/10) = 1.4$ ;  $P = 0.266$ ).

Las latencias de respuesta de los sujetos del grupo 2 también fueron algo más elevadas que las del grupo control, pero sin que las diferencias entre estos dos grupos llegaran a ser significativas.

## DISCUSION

Nuestros resultados muestran, en síntesis, que el estrés agudo producido por la inmovilización interfiere con la conducta de escape y evitación adquirida previamente. Se puede precisar más y afirmar que el déficit en la conducta de escape y evitación se debe a dos hechos relativamente independientes: uno sería el enlentecimiento de la respuesta, es decir, el aumento de la

latencia y el otro sería el aumento del número de ensayos en los que el animal no realiza ninguna respuesta, ni de escape ni de evitación.

El retardo de la respuesta es apreciable únicamente cuando la prueba de escape y evitación se realizó justo después de la inmovilización; en cambio, en el grupo en que esta prueba se hizo 22 horas después, aunque se aprecia un aumento notable de las latencias de respuesta, su diferencia respecto al grupo de control no llega a ser estadísticamente significativa. En la segunda sesión de prueba, las latencias de respuesta de los animales, en aquellos ensayos en que las realizaron, no son diferentes en ninguno de los grupos, incluido el control sin estrés. Por lo tanto, parece que este enlentecimiento de la respuesta puede ser entendido como un efecto directo del estrés que se disipa con el tiempo.

Si prestamos atención, ahora, al número de ensayos sin respuesta, podemos ver que mientras que en el grupo al que se le aplicó estrés antes del descanso esta variable sigue un curso temporal paralelo al retardo de la respuesta, es decir, es mayor en la primera sesión de prueba, en el grupo en el que se aplicó estrés después del descanso e inmediatamente antes de la primera sesión de prueba, el número de ensayos sin respuesta aumenta en la segunda sesión en lugar de disminuir. Es más, en esta segunda sesión el promedio de ensayos sin respuesta fue muy alto, seis ensayos entre diez, sin embargo, como ya hemos apuntado antes, el promedio de las latencias en los ensayos en que sí hubo respuesta fue el normal. Por estas razones suponemos que el retardo de la respuesta y el aumento del número de ensayos sin respuesta son dos hechos que, si bien están originados ambos por la administración del estrés agudo, son relativamente independientes y pueden estar modulados por factores diferentes.

Dado que la plataforma de inmovilización y la caja de escape y evitación son dos contextos muy diferentes, resulta difícil pensar que se haya podido producir algún tipo de transferencia de aprendizaje. Esto nos lleva a considerar si el déficit en escape y evitación se puede atribuir exclusivamente a los efectos biológicos producidos por el estrés en los animales, en la línea, por ejemplo, de los trabajos de Weiss (Weiss y Glazer, 1975). Nuestros resultados presentan una dificultad importante a una explicación de este tipo. Si los déficits en escape y evitación se deben exclusivamente al impacto biológico del estrés, dichos déficits tendrían que ir desvaneciéndose con el tiempo, cosa que no ocurre en uno de los grupos.

Nuestros resultados también se pueden confrontar con los trabajos de Anisman (1975) acerca de los efectos temporales no asociativos sobre el comportamiento de evitación. Dicho autor intenta explicar el hecho que, después de la aplicación de descargas inescapables o pocos ensayos de evitación, la ejecución de la evitación señalada progresa más lentamente después de intervalos de tiempo intermedios, entre 1 hora y 6 horas, que después de periodos cortos, menos de 10 minutos, o muy largos, 24 horas (Kamin, 1963). Según Anisman la exposición a estimulación que provoca estrés tendría efectos asociativos y no asociativos; mientras que las variaciones en los

factores asociativos serían muy pequeñas en 24 horas, los cambios en los factores no asociativos serían manifiestos y en un sentido no monotónico. En concreto, Anisman sugiere que, de forma inmediata habría una facilitación de la actividad, seguida de un rebote que aumentaría la petrificación (*freezing*) que se traduciría en un empeoramiento de la ejecución de la evitación, este rebote desaparecería a las 24 horas.

El punto de contacto de la teoría de Anisman con nuestros datos está en la conjunción entre factores asociativos y no asociativos, puesto que sugiere que los animales tienen dificultades para iniciar una respuesta que ya está adquirida debido al aumento de la petrificación y no a un debilitamiento del aprendizaje. Esto es lo que parece que les sucede a nuestros animales cuando en muchos ensayos no realizan ni escape ni evitación, pero cuando lo hacen es con una latencia normal. Sin embargo, la teoría de Anisman se reduce a los efectos producidos dentro de un intervalo de 24 horas después de haber aplicado una descarga inescapable y la interferencia que hemos observado nosotros se produce más tarde. Por otra parte el retardo inicial de las respuestas que hemos constatado tampoco encaja en el modelo de Anisman.

Finalmente, LoLordo y Randich (1981) han propuesto un modelo general para los cambios temporales no asociativos que puede dar cuenta de variaciones en los efectos conductuales de los estímulos aversivos producidas hasta 300 horas después de la aplicación de descargas inescapables. Este modelo se sustenta en la hipótesis de que la estimulación aversiva desencadena un proceso motivacional doble de efectos opuestos que va cambiando tanto con el paso del tiempo como con nuevas presentaciones de estímulos aversivos. Desgraciadamente el desarrollo inicial de este modelo se ha basado en el estudio de la supresión condicionada con lo que es difícil compararlo con nuestros resultados.

De todas maneras, antes de intentar formular una explicación precisa de estos resultados es necesario comprobar que este fenómeno es replicable, en las mismas circunstancias o con otros procedimientos de reforzamiento negativo, y descartar que sea un artefacto producido por las características del procedimiento.

## REFERENCIAS

- Anisman, H. (1975). Time-dependent variations in aversively motivated behaviors: non-associative effects of cholinergic and catecholaminergic activity. *Psychological Review*, 82 (5), 359-385.
- Armario, A; Ortiz, R. y Balasch, J. (1983). Effect of crowding on some physiological and behavioral variables in adult male rats. *Physiology and Behavior* 32, 35-37.
- Jackson, R. L; Maier, S. F, y Coon, D. J. (1979). Long-term analgesic effects of inescapable shock and learned helplessness. *Science*, 206, 91-93.
- Kamin, L. J. (1963). Retention of an incompletely learned avoidance response: some further analyses. *Journal of comparative and Physiological Psychology*, 56, 713-718.
- 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 accounts. En P. Harzen y



- M.D. Zeiler (Eds.) *Advances in Analysis of Behaviour, 2. Predictability, correlation and contingency*. New York: Wiley, 247-285.
- Pare, W. (1965). Stress and consummatory behavior in the albino rat. *Psychological Reports, 66*, 399-405.
- Ritter, B. (1978). Effect of chronic restraint on open field activity of aging C57BL/6N mice. *Experimental Aging Research, 4*, 87-59.
- Roth, K. A. y Katz, R. J. (1979). Stress, behavioral arousal and open field activity: A reexamination of emotionality in the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 3*, 247-263.
- Seligman, M. E. P. y Beagley, C. (1975). Learned Helplessness in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 88*, 534-541.
- Sterrit, G. M. y Semberg, K. (1983). Inhibition and facilitation of eating by electric shock. *Journal of Psychosomatic Research, 7*, 217-223.
- Stone, E. A. (1978). Possible grooming deficit in stressed rats. *Research Communications in Psychology, Psychiatry, and Behavior, 3*, 109-115.
- Weiss, J. M. y Glazer, H. I. (1975). The effects of acute exposure to stressors on subsequent avoidance-escape behavior. *Psychosomatic Medicine, 37*, 499-521.