

CONSEJO DE DIRECCION

Daniel Camacho
Teresa Quiróz
Mario Fernández

AVANCES DE INVESTIGACION

ISSN 0378-0473

Año 1977

N^o. 25

CORRELATOS BIOQUIMICO - FISIOLÓGICOS DEL STRESS ANTICIPABLE INCONDICIONADO E INTERVALO FIJO

Dr. Carlos M. Quirce Balma
Mauricio Odio Iglesias
Jose Miguel Solano Navarro



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOCIALES
FACULTAD DE CIENCIAS SOCIALES
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

En la serie "Avances de Investigación" se publican los trabajos del Instituto de Investigaciones Sociales con el propósito de suscitar debates y críticas que permitan mejorarlos antes de su publicación definitiva.

CUBIERTA: Serpiente emplumada, Cerámica Vallejo Policromo de la Gran Nicoya, Guanacaste, Costa Rica. Propiedad de Molinos de Costa Rica.

La serpiente emplumada se manifiesta como una constante de la simbología precolombina desde América del Norte hasta América del Sur y está relacionada con la sabiduría semi-divina a lo largo de la historia.

Correspondencia y canje dirigirlos a:
Centro de Documentación
Instituto de Investigaciones Sociales
Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio"
Apartado 49
San Pedro de Montes de Oca
San José, Costa Rica.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOCIALES
FACULTAD DE CIENCIAS SOCIALES
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

CORRELATOS BIOQUIMICO - FISIOLOGICOS DEL STRESS

ANTICIPABLE INCONDICIONADO DE INTERVALO FIJO



Dr. Carlos Ml. Quirce Balma
Mauricio Odio Iglesias
José Miguel Solano Navarro

julio, 1977

Este trabajo fue revisado en sus aspectos formales por el Lic. Juan Caviedes.

INDICE

	Pág.
I INTRODUCCION	1
II MATERIALES Y METODOS	5
III RESULTADOS Y ANALISIS DEL EXPERIMENTO	11
IV DISCUSION	29
V CONCLUSION	35
BIBLIOGRAFIA	37



PRESENTACION

El presente estudio constituye un adelanto en la delineación de los efectos bioquímicos y fisiológicos inducidos en animales por medio de horarios de inmovilización crónica. Este trabajo ha de compararse con el anterior denominado: "Resultados experimentales de un estudio sobre tensión nerviosa (stress)" publicado en el Avance N° 22 de esta serie. La comparación consiste en contrastar los efectos de la inmovilización aplicada en horario de intervalo variable a los que se refiere dicha anterior publicación, con los de la inmovilización a intervalo fijo a los que se dedica la presente. Se ha encontrado que el organismo del animal reacciona en forma muy distinta dependiendo de si puede o no anticipar cuando va a ser inmovilizado. Esto hace aparecer como probable que la tensión nerviosa es función del factor de anticipación. También el presente trabajo demuestra que la imposibilidad de anticipar el día en que va a ser inmovilizado causa una mayor perturbación en el organismo del animal que un horario de inmovilización anticipable. De hecho esto nos hace pensar que la tensión nerviosa no parece ser causada por horarios de intervalo fijo de naturaleza anticipable.

Trasladado al humano, lo anterior constituye un primer intento de delinear causas del incremento de los problemas psicosomáticos que ha sido observado en sociedades que están cambiando rápidamente. El autor pretende que el ritmo acelerado y no planificado de cambio social constituye en el humano una situación análoga a los horarios no anticipables de stress que él ha producido en laboratorio. Esto nos provee una valiosa herramienta de investigación sobre las causas y posibles medios curativos de la disfunción psicosomática. Ciertamente introduce una variable de naturale

za social de la cual se había prescindido en la literatura psicomomática. De aquí deriva uno de los méritos de este trabajo. Sin embargo, en nuestra personal opinión, sería necesario introducir más consideraciones y tomar en cuenta otros variados factores antes de sugerir una aplicación a la sociedad de las conclusiones obtenidas en el laboratorio.

El Dr. Carlos Manuel Quirce se distingue como uno de los más asiduos y rigurosos investigadores jóvenes con que cuenta nuestra Universidad. Los estrechos lazos que mantiene con nuestro Instituto provienen no solo de su pertenencia a nuestra Facultad de Ciencias Sociales sino de la comunidad de intereses por la investigación científica.

Este es el tercero de una serie de avances de investigación sobre el stress que se derivan del programa permanente de estudio de ese tema que el Dr. Quirce mantiene.

DANIEL CAMACHO, Director
Instituto de Investigaciones Sociales
Universidad de Costa Rica

RECONOCIMIENTO

Agradecemos al Vice-Rector de Investigación de la Universidad de Costa Rica, Dr. Manuel Ma. Murillo, su ayuda y respaldo a este proyecto. Igualmente agradecemos al Dr. Oscar Ramírez, Decano de la Facultad de Farmacia y al Dr. Manuel Formoso, Decano de la Facultad de Ciencias Sociales por sus consejos y colaboración. También nuestro agradecimiento se extiende particularmente a los profesores y personal de la Facultad de Farmacia, que nos han brindado a través de esta y otras investigaciones, continua ayuda en instrumentación, materiales e información.

Al Dr. Jorge Piza Escalante del Hospital Nacional de Niños por su colaboración científica a nivel histopatológica, y al Dr. Gilberto Mejía Porras por la suya en lo que respecta el análisis radioinmunológico de la corticoesterone.

Finalmente damos especial reconocimiento al paciente y cuidadoso trabajo realizado por los asistentes del proyecto: Manuel Solano, Pilar Trimiño y - Hector Chavarría que han sabido amar la investigación.

También al Dr. Gerardo Rodríguez por su apoyo incondicional a nuestro proyecto y al señor Carlos Luis Rodríguez, director de la Oficina de Equipos y - Reactivos por su eficiente ayuda, extendemos nuestras gracias.

DELINEACION SISTEMATICA DE NUESTRAS BASES DE LA CONCEPTUALIZACION DE

LA TENSION NERVIOSA (STRESS) - FASE II

I INTRODUCCION

El presente estudio responde a una serie de inquietudes generadas por una investigación anterior de stress e intervalo variable (Quirce et al, 1977). En dicho trabajo explicamos que la experiencia de someter un organismo a un horario no - anticipable de inmovilización durante 36 sesiones, resultaba en un aumento significativo y longitudinalmente mantenido de marcadores de la tensión. De hecho, esta investigación podía ser criticada por cuanto que se argumentase que un igual número de sesiones de inmovilización anticipables causarían iguales resultados. Así pues nos hemos abocado a indagar sobre los efectos que la misma experiencia, pero con horario anticipable (intervalo fijo), tiene en la rata adulta albina macho.

En la actualidad, la literatura científica existente sobre el stress presenta un estado de controversia en lo referente al tema de la anticipación y la no-anticipación de situaciones causantes de stress. Autores tales como Mck. Rioch (1971), Weiss (1970), Seligman et al (1970) y Lapin et al (1971), habían encontrado, en parámetros como corticoesterona plásmica, ulceración, y respuestas emocionales, bases para afirmar que estímulos adversos eran tanto más estresantes cuanto menos predecibles era su ocurrencia. Por otra parte, Paré (1971) había encontrado que al menos en hipertrofia suprarenal, dicha ocurrencia estaba más correlacionada al número de sesiones de presentación del estímulo adverso, que a su probabilidad o no-probabilidad de ocurrencia. Paré, en síntesis, ha argumentado en contra de la hipótesis de la no-anticipación como inductora de tensión crónica.

En realidad, todos los autores han utilizado métodos de estudio particularmente destinados a indagar sobre los efectos agudos de la estimulación adversa no-anticipable. El mismo Paré utilizó horarios de choque eléctrico predecible e impredecible durante, solamente, cinco días. Este estudio, al igual que el anterior, (Quirce et al, 1977) intenta estudiar los efectos de la presentación de estímulos adversos incondicionados (inmovilización) a través de varias semanas. En este sentido se convierte en un estudio verdaderamente crónico de la anticipación y la no-anticipación.

Los parámetros evaluados son conocidos marcadores de tensión, salvo, quizás el lactato sanguíneo. La Hipertrofia suprarenal ha sido notada originalmente por Sayers et al (1949) y Selye (1949) como marcador de la inducción de stress. Más recientemente, Friedman et al (1965), al igual que Henderson (1968), han encontrado dicho fenómeno como consecuencia de la utilización de shock eléctrico. Incluso, situaciones de almacenaje (agrupado vs aislado) han causado cambios en el peso de la suprarenal en relación al peso del cuerpo (Bronson et al, 1968).

El peso total del cuerpo también ha sido notado como marcador de tensión por Brady et al, Shapiro et al y Paré et al (1962, 1965 y 1965 respectivamente).

La Glucosa plásmica ha sido reportada como marcador por Evans et al, Watson et al y Mayes (1970, 1958 y 1962 respectivamente). Quirce (1974), sin embargo, había encontrado que ésta no es un marcador adecuado de stress agudo que se prolongue por más de media hora.

La Corticoesterona plásmica ha sido reportada por Maickel et al, Mck. Rioch, Nistico et al y otros. De hecho, la corticoesterona constituye, aún, el más válido de los marcadores de tensión conocido.

El lactato sanguíneo, por otra parte, no ha sido utilizado como marcador de stress propiamente, aunque se ha observado su aumento en estados de ataque

ansioso en humanos (Cohen et al, 1950 y Pitts et al, 1967).

El presente trabajo, como ya dijimos, intenta estudiar los efectos crónicos de inmovilización en horarios anticipables. La inmovilización, que es conocida desde los originales trabajos de Selye (1956) como inductora de un aumento en el SGA, actúa como un estímulo incondicionado adversivo en el roedor. Nuestro diseño ha sometido el proceso de inducción de la respuesta incondicionada de aumentos en el SGA (Síndrome General de Adaptación) a horarios de intervalo fijo. Debe notarse que aunque el horario de intervalo corresponde a una consideración de relación respuesta-refuerzo operante (Holland et al), este trabajo lo ha utilizado en un diseño de castigo incondicionado que no es contingente sobre respuesta alguna de parte del organismo.

II MATERIALES Y METODOS:

Treinta ratas blancas, machos cuyo peso oscilaba entre 60 y 140 gramos (4-6 semanas de edad), fueron sometidas a un total de treinta y seis sesiones de inmovilización durante un periodo de diez semanas. Las inmovilizaciones se realizaron en sesiones de cuatro horas cada una, siguiendo un horario de aplicación de intervalo fijo. El intervalo entre cada sesión de inmovilización fue de cuarenta y ocho horas, o sea cada dos días. Los treinta animales se mantuvieron en dos condiciones distintas: 15 agrupados (5 por jaula), y 15 aislados (1 por jaula). Estas condiciones se referían a la vivienda en el bioterio o sea a la variable de almacenamiento. Otros treinta animales se mantuvieron en idénticas condiciones de vivienda (15 aislados y 15 agrupados), pero no recibieron ninguna sesión de inmovilización. Estos últimos actuaron como grupo control de los anteriores y fueron, al igual que los grupos experimentales, transportados al laboratorio el mismo día de la sesión. Todos los grupos recibieron almacenamiento en el bioterio de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica. Las inmovilizaciones fueron llevadas a cabo en las facilidades del Laboratorio de Toxicología de la misma Facultad. Los animales experimentales fueron sometidos a inmovilización utilizando unas cajas metálicas diseñadas por Quirce en 1974 en el Hospital Méjico. Dichas cajas consisten en una estructura metálica cuadrada, sobre la cual se mantiene una plancha metálica móvil. En ella, el animal puede ser inmovilizado entre la plancha y el piso, y la presión puede ser graduada para que éste no pueda moverse, pero sin que sufra aplastamiento alguno. El fondo de la caja esta provisto de cedazo en ambos lados, para permitir la respiración y el escape del calor animal que se genera durante la inmovilización. Esto permite evitar fenómenos de hipertermia en la caja.

Los animales recibieron agua ad libitum, siendo alimentados diariamente con Purina Laboratory Chow importada de la Compañía Purina (Michigan, USA), Antes de cada sesión se tomó registro de los pesos tanto de los animales experimentales como de los controles. Al finalizar la 36ava. inmovilización, todos los animales fueron mantenidos durante 48 horas en el biotero para ser luego decapitados y desangrados en tubos de centrifugación de 13 mls., previamente heparinizados. Los cerebros y las glándulas suprarrenales fueron similarmente extraídos y lavados en salina fisiológica a 4°C. Las glándulas suprarrenales, una vez libres de todo tejido adyacente, fueron cuidadosamente secadas con papel absorbente y pesadas en una balanza Satorius-semi-micro. Finalizada la determinación de peso, fueron almacenadas en papel parafilm de la compañía Marathon y congeladas a -20°C.

Los cerebros, luego de ser lavados con salina fisiológica a 4°C, se separaron del tallo cerebral y el cerebelo, cortando cuidadosamente en la región intercolicular. Inmediatamente después, dichos cerebros se secaron en papel absorbente y se almacenaron en papel parafilm (Marathon) a -20°C.

La sangre fue centrifugada a 2000 RPMS durante 15 minutos en una centrifuga Clay-Adams tipo Safeguard. Al finalizar este intervalo, los ejemplares fueron sacados de centrifugación, y el supernatante plásmico extraído cuidadosamente con gotero. Este fue vertido en tubos de ensayo (13 X 75mm) que fueron inmediatamente congelados a -20°C.

Los análisis de glucosa se llevaron a cabo utilizando el método Glucostar (Martinek, 1964) obtenido de la compañía Sigma (Boletín Técnico 510). Dicho análisis utiliza un sistema sencillo de tipo enzimático y cuya medición es colorimétrica. La naturaleza del análisis consiste en convertir la glucosa en ácido glucónico en la presencia de oxidasa de glucosa. La generación de peróxido de hidróge

no que ocurre en esta reacción, permite oxidar la orthodianisidina en la presencia de peroxidasa. Dicho compuesto oxidado produce un característico color café que absorbe a $450\text{nm} (+25\text{nm})$. El grado de absorbencia es proporcional a la concentración de glucosa.

Las concentraciones de lactato fueron evaluadas siguiendo el principio de determinación de Henry (1968). Para este fin se utilizó el "kit" de análisis de lactato de la compañía Sigma (Boletín Técnico 326-UV). Dicho análisis consiste en añadir un exceso de NAD al suero para convertir, en presencia de dehidrogenasa de lactato, el lactato en ácido pirúvico y NADH. La absorbencia a 340nm del NADH formado es proporcional a la concentración de ácido láctico originalmente presente. La medición en UV se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro tipo Coleman Junior II, al igual que el visible para la glucosa.

Las evaluaciones de las glándulas suprenales reportadas se llevaron a cabo obteniendo las razones de: peso glándulas suprenales / peso total cuerpo. También se está llevando a cabo un análisis histopatológico de dichas glándulas en colaboración con el Hospital Nacional de Niños a través del Dr. Jorge Piza Escalante. Dicho estudio, que aún no ha sido completado, evaluará el grosor de la corteza y médula suprenal, la grasa celular y número de células en corte fino del tejido.

Las determinaciones de corticoesterona plásmica fueron realizadas en el Hospital Méjico por el Dr. Mejía Porras, utilizando el método Radio-inmunológico de Pearson y Murphy.

El horario de intervalo fijo utilizado para ambos grupos se presenta en el cuadro 1. En éste se puede notar la continuidad de 48 horas entre cada sesión de inmovilización.

SECUENCIA HORARIA DE INTERVALOS

FIJOS DE INMOVILIZACION

NUMERO DEL DIA DE INMOVILIZACION		
INMOVILIZACION N°	AGRUPADO	AISLADO
1	1	2
2	3	4
3	5	6
4	7	8
5	9	10
6	11	12
7	13	14
8	15	16
9	17	18
10	19	20
11	21	22
13	23	24
14	25	26
15	27	28
16	29	30
17	31	32
18	33	34
19	35	36
20	37	38
21	39	40
22	41	42
23	43	44
24	45	46
25	47	48
26	49	50
27	51	52
28	53	54
29	55	56
31	57	58
32	59	60
33	61	62
34	63	64
35	65	66
36	67	68

Tanto los animales experimentales como sus respectivos controles obtuvieron cantidades iguales de comida por animal. Se comenzó (al principio de la primera sesión) con cuatro "pellets" de Purina por animal y al cabo de la treinta y seisava estaban recibiendo siete pellets. El criterio de aumento en pellets fue el que los animales comenzasen a demostrar diferencias negativas en aumentos de peso entre sesión y sesión. Esto se refiere a una disminución, en vez de un aumento de peso total cuerpo (en un máximo del 20% de los animales entre una sesión y la anterior). Al notarse dicho fenómeno, se aumentaba, tanto en el grupo experimental como en el grupo control la alimentación en un "pellet" por animal.



III RESULTADOS YA ANALISIS DEL EXPERIMENTO:

1. Cambios en el peso de la glándula suprarrenal:

La Tabla I y su correspondiente gráfico nos demuestra la existencia de una diferencia significativa ($p = 0.006$) entre condiciones experimentales y sus dos controles respectivos. Dicho nivel de significación resultó ser, como se puede observar, en extremos alta, particularmente por cuanto que habían transcurrido ya 48 horas desde la última sesión de inmovilización. Se encuentra que el intervalo fijo indujo a través de treinta y seis sesiones, hipertrofias mayores que las observadas en el mismo número de sesiones por intervalo variable (Quiree et al, 1977). En este sentido tiende a contradecir los encuentros de Paré (1971), que observó igual grado de hipertrofia en animales sometidos a igual número de "shocks" eléctricos (o sea estímulos aversivos), pero en un grupo con 100% de probabilidad de ocurrencia y en otro solo con 50% de probabilidad. Desde luego, también ha de tomarse en cuenta que la hipertrofia reportada por el autor se limita a cinco días de sesiones, y la probabilidad absoluta de shock (100%) o probabilidad parcial (50%) se establecen en un mismo día de sesiones de shock. El presente estudio establece la probabilidad de inmovilización al mantener constante el intervalo de días entre sesiones. El estudio anterior mencionado de intervalo variable, establecía no-probabilidad o probabilidad parcial de inmovilización al variar, al azar, el número de días entre cada sesión de inmovilización.

Ciertamente, se encuentran bases para afirmar que existen diferencias entre ambos tipos de horarios, en cuanto se refiere al grado de hipertrofia suprarrenal. Una hipótesis tentativa podría ser que el intervalo variable de inmovilización induce no menor hipertrofia que el intervalo fijo, sino más bien una progresión hacia hipertrofia relativa debido al extremo aumento y mantenimiento de

la fase de resistencia del SGA a través de 36 sesiones. Así pues, se estaría diciendo que el intervalo fijo permite una estabilización de la fase de resistencia del SGA, mientras que el intervalo variable induce un fenómeno progresivo de deterioro en los ejes adenohipofisial-adrenocortical e hipotalámico-simpático-adrenomedular. En este caso, se esperaría encontrar una perturbación constante en los mecanismos metabólicos-homeostáticos del animal sometido a intervalo variable y una mayor habituación de los mismos con menor perturbación permanente en los ejes anteriormente mencionados en animales sometidos a intervalo fijo de inmovilización.

Debe recordarse que tanto el diseño de Paré como el que se utiliza en ésta y la anterior (Quirce et al 1977), utilizan el llamado sistema no-contingente sobre respuesta (non-response contingent situation). En ella, el organismo sufre el shock o la inmovilización al antojo del experimentador, sin poder cambiar la presentación del mismo a través de sus respuestas conductuales. En este sentido, difiere de los trabajos de no-predicibilidad de shock eléctrico en aprendizaje operante que es contingente de las respuestas del animal, presentados por Ferraro et al (1967).

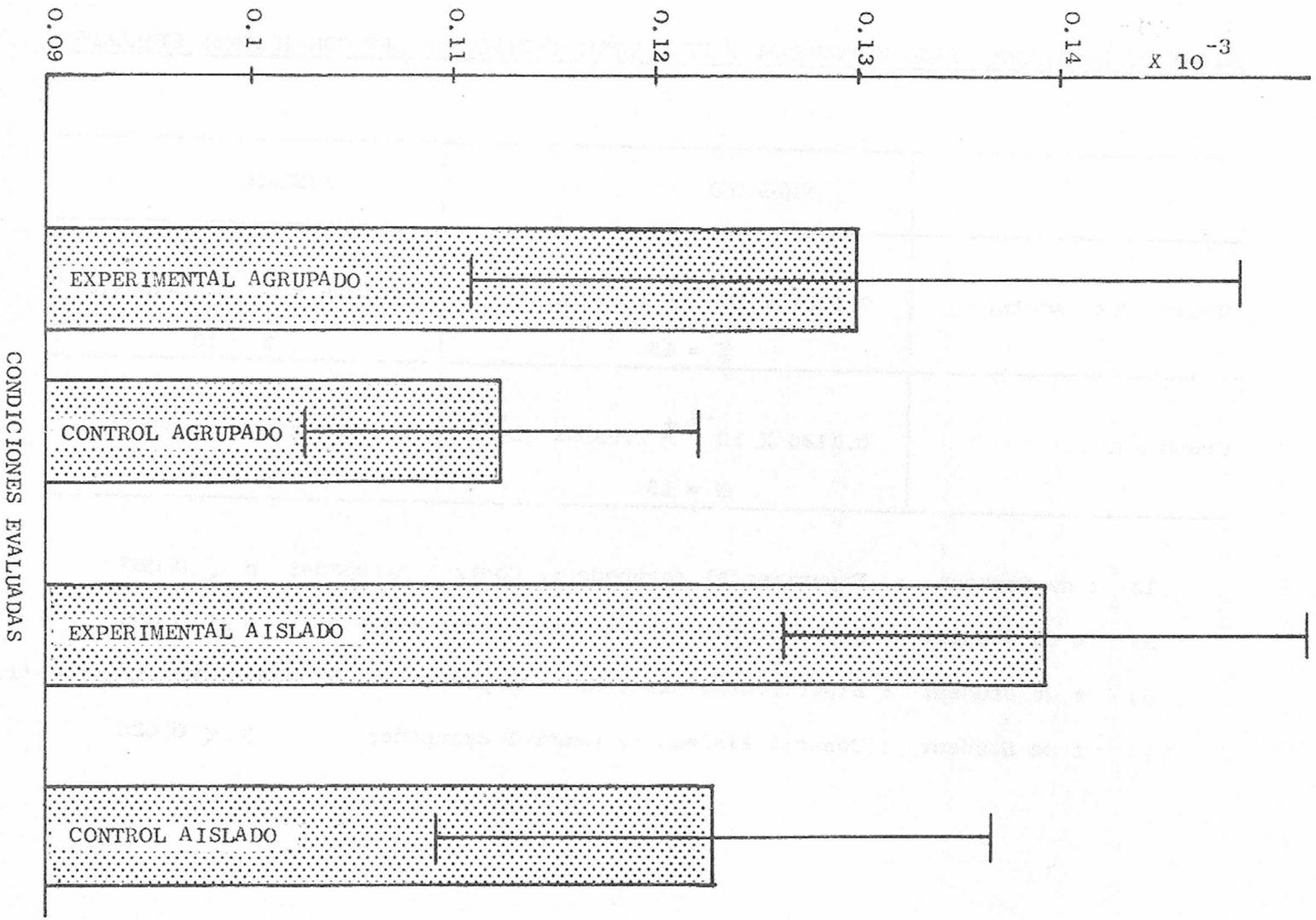
TABLA I

MEDIAS DE LA RAZON: PESO SUPRARENAL / PESO TOTAL CUERPO, EN LAS CONDICIONES EVALUADAS

	AGRUPADO	AISLADO
Grupo experimental	$0.1301 \times 10^{-3} \pm 1.8901 \times 10^{-5}$ N = 15	$0.1396 \times 10^{-3} \pm 1.4435 \times 10^{-5}$ N = 13
Grupo control	$0.1126 \times 10^{-3} \pm 0.9964 \times 10^{-5}$ N = 15	$0.1229 \times 10^{-3} \pm 1.3627 \times 10^{-5}$ N = 15

- 1) t de Student : Experimental agrupado vs Control agrupado: $p < 0.005$
- 2) t de Student : Experimental aislado vs Control aislado: $p < 0.005$
- 3) t de Student : Experimental agrupado vs Experimental aislado: No significativo
- 4) t de Student : Control aislado vs Control agrupado: $p < 0.025$

Gráfico I - Datos de la Tabla I



2. Medición de las ganancias de peso en los animales en las condiciones evaluadas:

La Tabla II y su correspondiente gráfico, indican los resultados de la evaluación realizada sobre los datos de las ganancias de peso en los animales experimentales y en los controles, en las dos condiciones de socialización. Tanto experimentales-agrupados como experimentales-aislados demostraron menor ganancia de peso como consecuencia del intervalo variable de inmovilización en relación con sus respectivos controles ($p < 0.0005$ en ambos casos). Esto nos demuestra que los animales experimentales, o están comiendo menos que los controles, o están utilizando más el alimento. Lo último puede ser factible, dado el aumento en metabolismo que caracteriza a una sesión cualquiera de inmovilización. Debe recordarse que los grupos de control y los experimentales recibieron igual cantidad de comida. Desafortunadamente, debido a la ausencia de aparatos adecuados de medición resulta imposible estimar cuánta de esta comida fue digerida y cuánta fue deseada.

En esta table, también encontramos que no se encontró diferencia entre las ganancias de peso en las comparaciones: experimental aislado vs experimental agrupado, ni tampoco entre control aislado vs control agrupado. Esto nos indica que el aislamiento en sí, no probó ser una variable en la reducción de peso de los animales tanto experimentales como controles.

Dichos datos contrastan con los del experimento a intervalo variable (Quirce et al, 1977) en el que no se encontró diferencia significativa entre experimentales y controles aislados.

TABLA II

MEDIAS DE LAS DIFERENCIAS DE PESO TOTAL-CUERPO ENTRE LA PRIMERA Y LA ULTIMA SESION EN
GRAMOS

	AGRUPADO	AISSLADO
Grupo experimental	223.02 \pm 24.79 N = 15	226.5 \pm 22.34 N = 13
Grupo control	236.66 \pm 27.32 N = 15	234.4 \pm 24.47 N = 15

Aparecen reportadas las medias \pm Desviación estándar

- 1) t de Student: Control agrupado vs Experimental agrupado: $p < 0.0005$
- 2) t de Student: Control aislado vs Experimental aislado: $p < 0.0005$
- 3) t de Student: Experimental aislado vs Experimental agrupado: $p < 0.05$
- 4) t de Student: Control agrupado vs Control aislado: $p < 0.05$

CONDICION

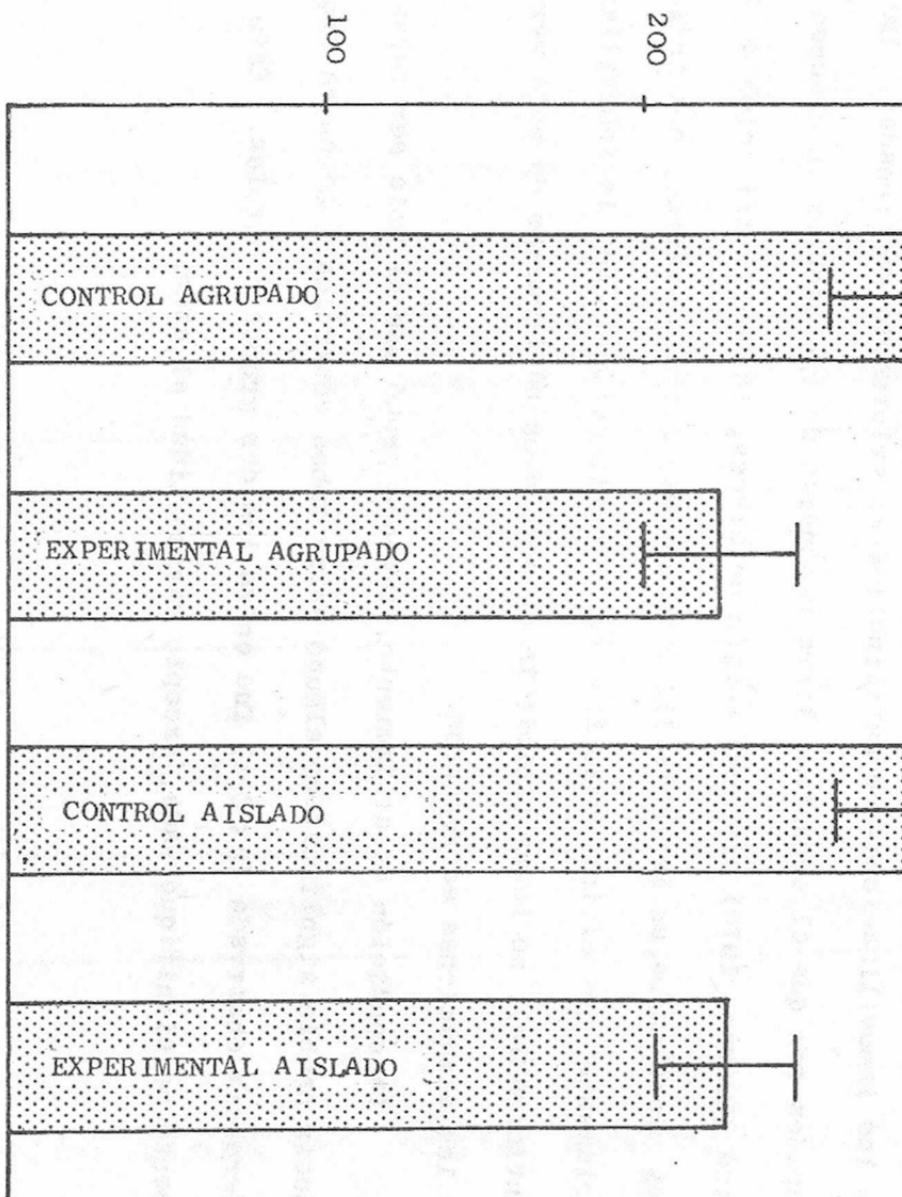
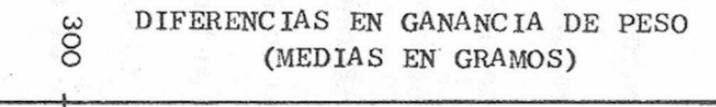


Gráfico II- Datos Tabla II



3. Medición de la glucosa en el plasma sanguíneo en las condiciones evaluadas:

Las diferencias entre los grupos experimentales y los grupos controles, en las dos condiciones de socialización consideradas, no resultaron significativas en glucosa plásmica. Lo anterior es en extremo interesante por cuanto contrasta con los resultados del anterior estudio de intervalo variable en los que se notaba una leve ($p < 0.1$) pero consistente diferencia entre controles y experimentales de ambos grupos. El hecho de que no hubiesen diferencias en el intervalo fijo presentemente evaluado, nos indicaría que el organismo se ha habituado al rompimiento de su homeostasis 48 horas - después de la última sesión de inmovilización. Tal no parecía ser el caso en las inmovilizaciones no anticipables anteriormente mencionadas. Dada la rapidez con que el organismo logra reponerse de los cambios en glucosa plásmica (Quirce, 1974) ante una sesión de stress, la no-significación de los datos presentados en la Tabla III y su correspondiente gráfico, nos indicarían, solamente, que el intervalo fijo de inmovilización (o sea la inmovilización anticipable), no logra inhibir la capacidad de habituación de este marcador a las situaciones estresantes.

La condición de aislamiento, tampoco probó por sí sola ser capaz de inducir cambio significativo alguno entre ambos controles. La única pequeña diferencia observada ($p < 0.1$) fue entre los dos grupos controles. Esto posiblemente no signifique nada, excepto variabilidad al azar.

TABLA III

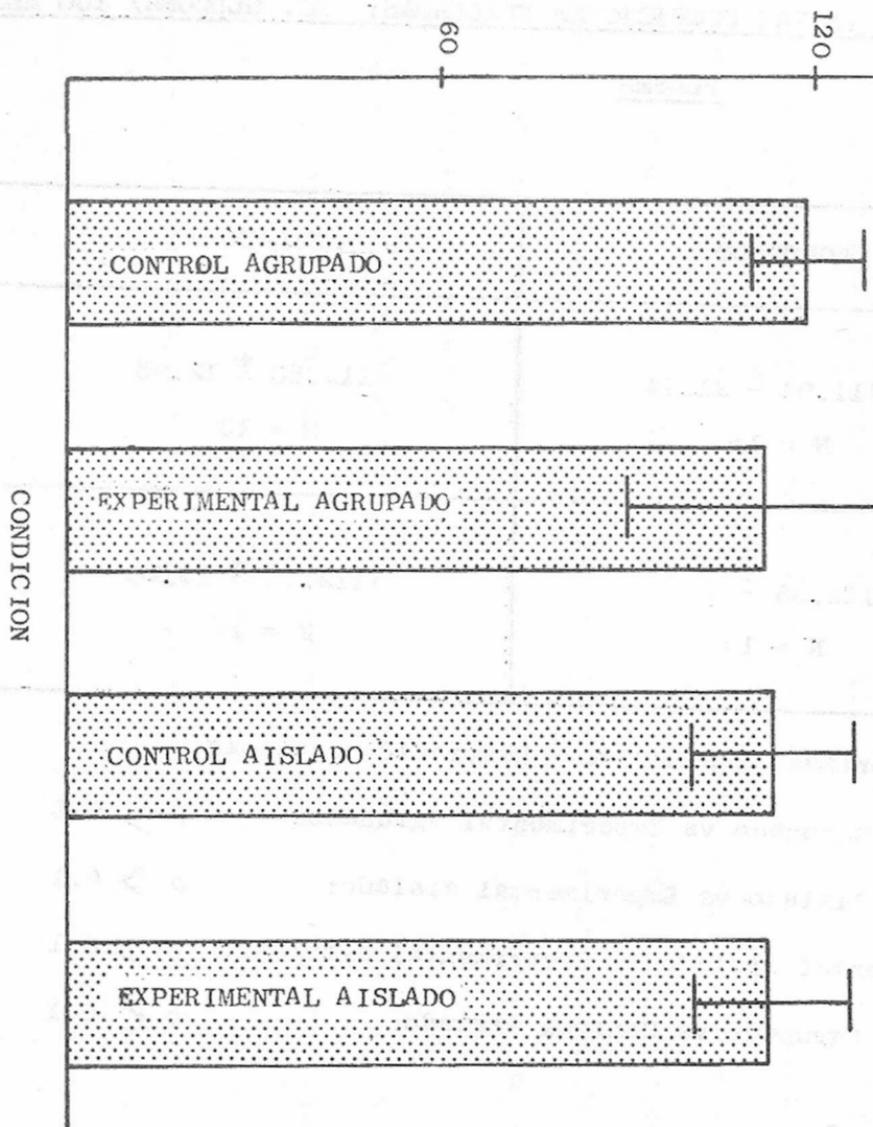
MEDIAS DE LAS MEDIDAS DE GLUCOSA EN LAS CONDICIONES EVALUADAS: MG. GLUCOSA/ 100 ML.

PLASMA

	AGRUPADO	AISLADO
Grupo Experimental	111.94 \pm 21.72 N = 15	112.50 \pm 12.95 N = 13
Grupo Control	113.55 \pm 3.73 N = 14	112.73 \pm 13.20 N = 15

Aparecen reportadas las medias \pm Desviación estándar

- 1) t de Student: Control agrupado vs Experimental agrupado: $p > 0.1$
- 2) t de Student: Control aislado vs Experimental aislado: $p > 0.1$
- 3) t de Student: Experimental aislado vs Experimental agrupado: $p > 0.1$
- 4) \ddagger de Student: Control agrupado vs Control aislado: $p < 0.1$



VALORES DE GLUCOSA - mg/100 mls PLASMA

ACTIVIDAD DE LA ENZIMA

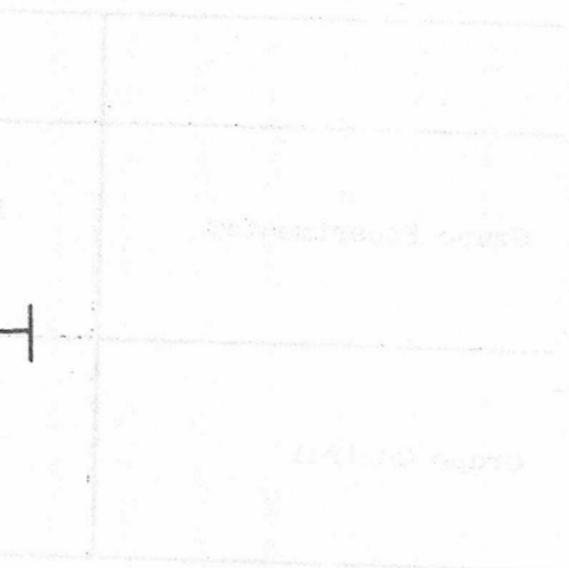


Gráfico III- Datos Tabla III



4. Medición de lactato en el suero sanguíneo en las condiciones evaluadas:

La Tabla IV y su correspondiente gráfico, nos demuestran una interesante relación en los niveles de lactato evaluadas en el suero de los animales a través de las diversas condiciones. En tanto las condiciones de control como experimental, los niveles de lactato por 100 ml. de suero se encontraron mucho más bajo que las correspondientes condiciones agrupadas. Dado que la diferencia entre experimental agrupado vs experimental aislado es de $p < 0.0005$, y la de control agrupado vs control aislado es también de $p < 0.0005$ encontramos que, la variable de aislamiento tiende a disminuir los niveles de lactato en el suero con respecto a la de socialización. Una posible explicación de este hecho quizá esté en la estimulación exploratoria que el animal socializado tiene en comparación con el aislado. Así pues, el animal agrupado al interactuar con otros animales tenderá a ejecutar mayor actividad estereotipada (posiciones de "sniffing anal", "boxing", "grooming" y ataque entre otras). Por ende, tendería a existir mayor uso del sistema muscular esquelético en el animal agrupado, con el consecuente aumento en la actividad de lactato dehidrogenasa y formación de lactato. Un hallazgo interesante fue que el estado de inmovilización por intervalo fijo no logró aumentar los niveles de lactato en suero en los animales agrupados, mientras que en aislados, se encontró un aumento significativo ($p < 0.0005$) de experimentales sobre controles. De nuevo, esto sería entendible si los niveles de lactato tienden a reflejar - principalmente el nivel de tono muscular más que el grado de tensión tal y como se entiende. Los animales experimentales aislados obtendrían mayor activación muscular como consecuencia de la inmovilización, la que aumenta en las fases de "choque" y "resistencia" del SGA, la actividad general del organismo.

Aun así, el tono muscular, o al menos la producción de lactato no logra aumentar, en experimentales aislados, hasta los niveles de agrupados. Esto quizá indique que el tipo de activación muscular de situaciones estresantes difiera en sus efectos metabólicos de la activación "normal" inducida por la interacción en el organismo socializado. Desde luego, aquí también entra en juego la diferencia entre metabolismo aeróbico y anaeróbico de la glucosa. Tomando en cuenta los datos de la Tabla III, sobre los niveles de glucosa en las cuales no se encontró diferencia significativa entre los niveles de una u otra condición, encontramos una perspectiva interesante para evaluar los cambios en lactato. Dado que las razones glucosa/lactato son mucho menores en agrupados que en aislados, podría hacerse una hipótesis tentativa: el animal agrupado utiliza más el ciclo Cori de metabolismo anaeróbico de la glucosa que el organismo aislado. Los aumentos observados en aislados experimentales, tenderían a respaldar esta proposición preliminar por cuanto que la activación inducida por la inmovilización permitiría una mayor cantidad de ácido láctico al ocurrir metabolismo de glucosa en las células musculares. Aún falta, desde luego, analizar cómo el intervalo variable de inmovilización interactúa en ambos grupos experimentales en la producción de lactato.

TABLA IV

MEDIAS DE LAS MEDIDAS DE LACTATO EN LAS CONDICIONES EVALUADAS: MG. LACTATO/100 ML.

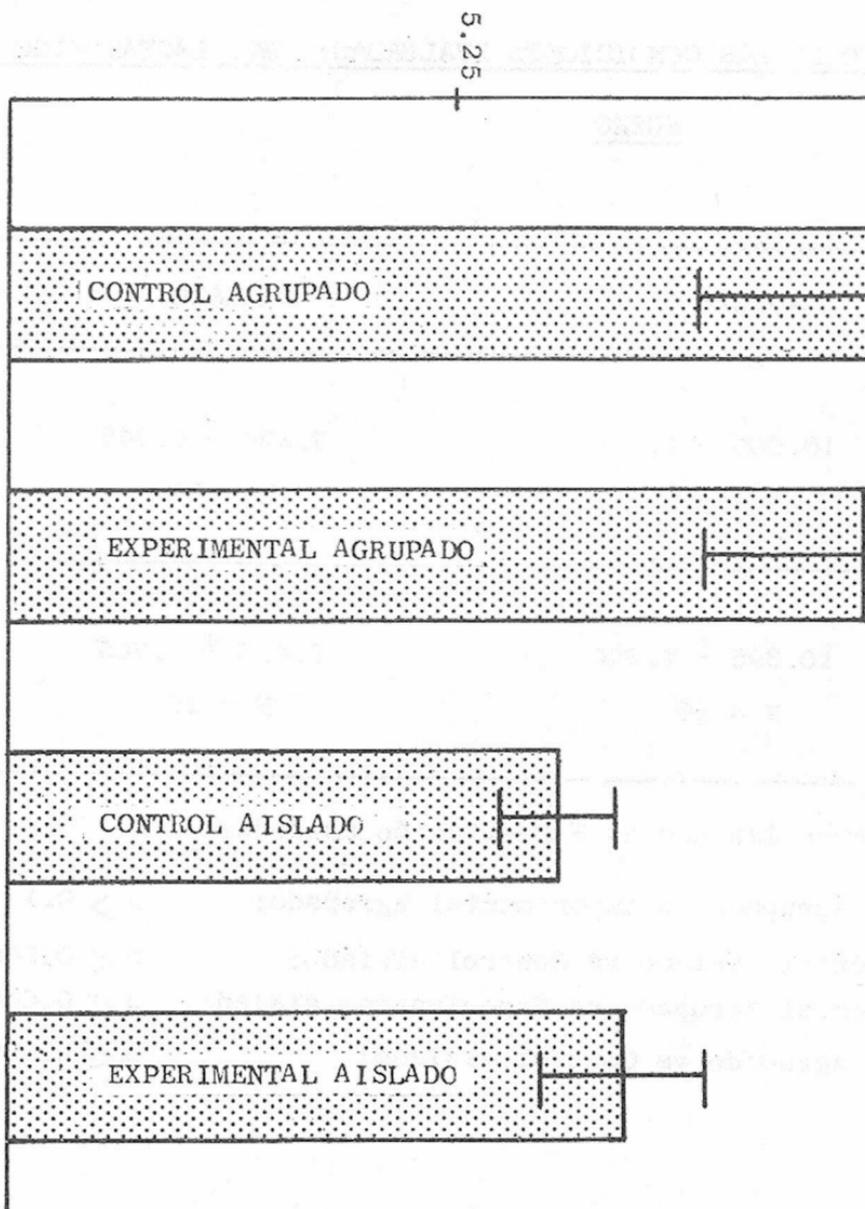
SUERO

	AGRUPADO	AISLADO
Grupo Experimental	10.080 \pm 1.375 N = 10	7.230 \pm 0.945 N = 11
Grupo Control	10.395 \pm 2.340 N = 10	6.465 \pm 0.705 N = 10

Aparecen reportadas las medias \pm Desviación estándar

- 1) t de Student: Control agrupado vs Experimental agrupado: $p > 0.1$
- 2) t de Student: Experimental aislado vs Control aislado: $p < 0.0005$
- 3) t de Student: Experimental agrupado vs Experimental aislado: $p < 0.0005$
- 4) t de Student: Control agrupado vs Control aislado: $p < 0.0005$

CONDICION



5.25

CONTROL AGRUPADO

EXPERIMENTAL AGRUPADO

CONTROL AISLADO

EXPERIMENTAL AISLADO

VALORES DE LACTATO: mg/100 ml. SUERO

10.50

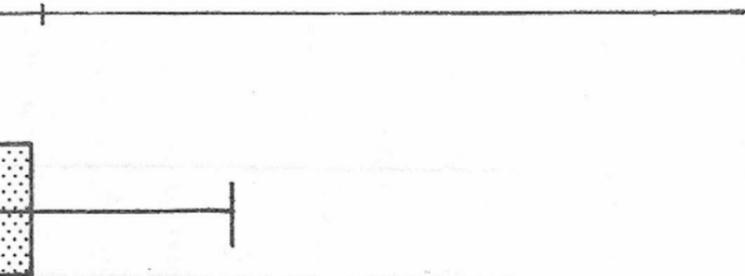


Gráfico IV- Datos Tabla IV

5. Evaluación de los niveles de corticoesterona en el plasma sanguíneo de los animales agrupados y aislados:

La Tabla V y su correspondiente gráfico, nos demuestran los resultados quizás, más interesantes que se hayan encontrado en los animales sometidos a intervalo fijo. La razón de lo anterior se explica por cuanto no se encontró ningún nivel de significación entre las cuatro condiciones evaluadas. Esto contrasta con la diferencia observada en el estudio anterior para los animales aislados sometidos al intervalo variable en el que el experimental se encontraba significativamente ($p < 0.0005$) elevado sobre su control. Esto nos indica, que, a pesar de haber mayor grado de hipertrofia suprarrenal en los animales de intervalo fijo que los de intervalo variable, no representó una mayor ni menor elevación de los niveles plásmicos de la corticoesterona.

De hecho, se encuentra, que el intervalo fijo de castigo (inmovilización) no -anticipable, no logra mantener el estado de la fase de resistencia del SGA típico de aumentos en corticoesterona. Por otra parte, indica que el intervalo variable difiere del fijo, ya que, al menos en aislados, el aumento se mantiene aún después de 48 horas de la última sesión de inmovilización (Quirce et al, 1977). Así pues, el castigo anticipable no logra inducir un mantenimiento longitudinal de la activación del eje adeno-hipofisial-adrenocortical al menos en cuanto a la hormona glucocorticoide se refiere.

TABLA V

MEDIAS DE LAS CONCENTRACIONES (ug/ml) DE CORTICOESTERONA EN EL PLASMA SANGUINEO

	AGRUPADO	AISLADO
Grupo Experimental	$0.10118^{\pm} 0.01149$ N = 15	$0.08869^{\pm} 0.05930$ N = 13
Grupo Control	$0.09736^{\pm} 0.04689$ N = 14	$0.07327^{\pm} 0.02953$ N = 15

Aparecen reportadas las medias \pm desviación estandar

- 1) t de Student: Experimental agrupado vs Control agrupado: No significativo
- 2) t de Student: Experimental aislado vs Control aislado: No significativo
- 3) t de Student: Experimental aislado vs Experimental agrupado: No significativo
- 4) t de Student: Control aislado vs Control agrupado: No significativo

MEDIAS DE ug/ml DE CORTICOESTERONA EN
PLASMA SANGUINEO

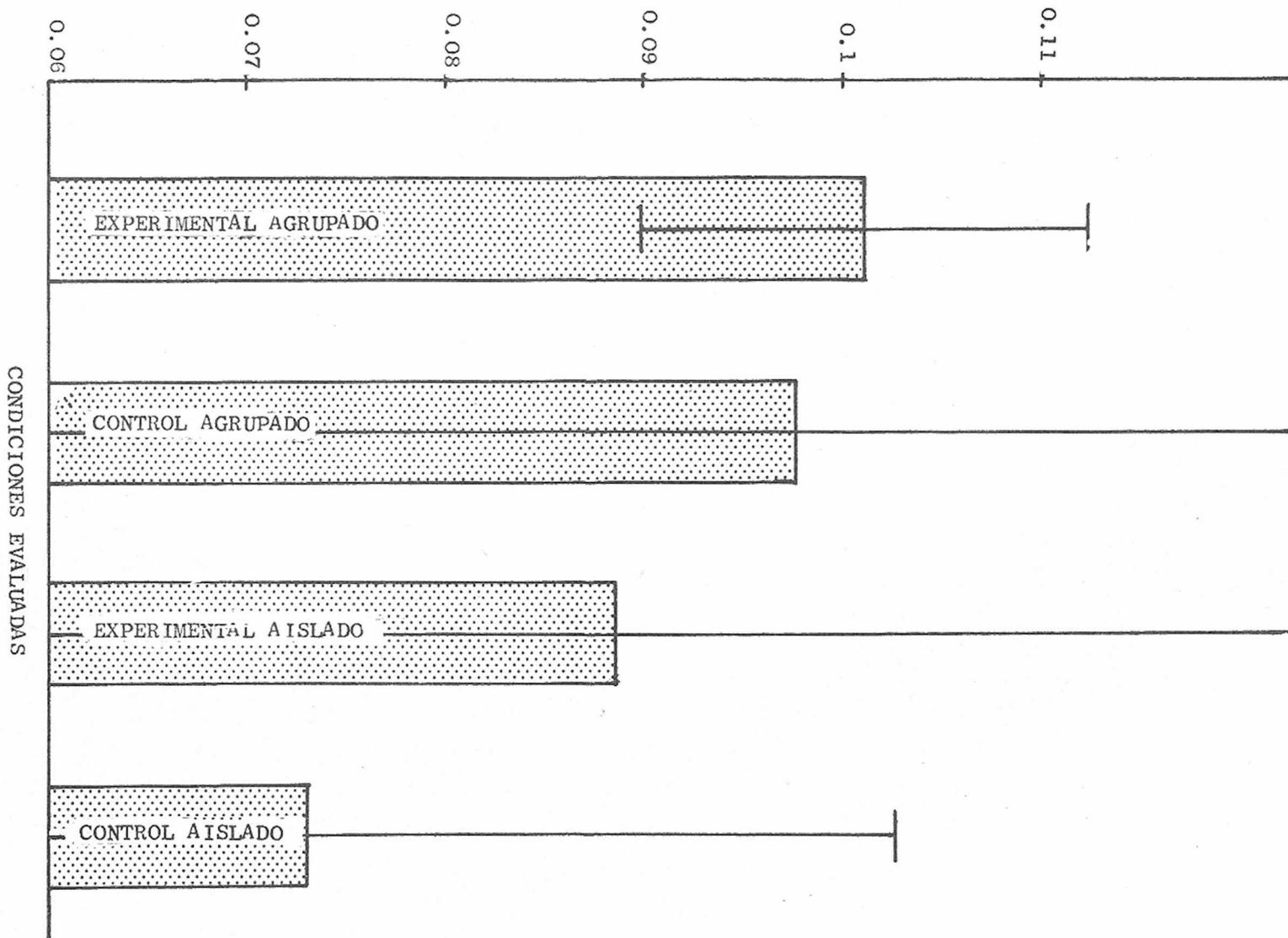


Gráfico V - Datos Tabla V

IV DISCUSION:

Tanto los resultados del presente estudio de intervalo fijo de inmovilización, como los referentes a la comparación de los mismos con los del intervalo variable (Quirce et al, 1977) nos indican que la no -predicibilidad de una situación estresante difiere de la predicibilidad del mismo a nivel fisiológico y metabólico. Esto, como se ha ya mencionado, tiende a contradecir los resultados de Paré al menos en lo que respecta a la hipertrofia suprarrenal.

Ciertamente, la tendencia correlacionada a no existir perturbación, en los niveles de glucosa o corticosterona plásmica en los animales de grupos socializados o aislados sometidos a intervalo fijo en este trabajo, difiere marcadamente de los cambios observados en ambas durante el intervalo variable del anterior estudio. Esto nos indica la propensión, de parte del intervalo fijo, a permitir un mayor grado de habituación al proceso estresante de inmovilización.

La hipótesis adelantada en la sección 1 de los Resultados, aún está por comprobarse. Se amerita un estudio de los efectos de intervalo fijo e intervalo variable de 15, 25 y 36 sesiones. Dicho estudio podría seguir los cambios en hipertrofia suprarrenal y correlatos bioquímicos, para determinar si los marcadores observados se perturban con menor número de sesiones de intervalo variable que de fijo. También, permitiría estudiar si la menor hipertrofia observada en el anterior estudio de intervalo variable en comparación con el observado en el fijo, en verdad constituye un cambio en la dirección de hipertrofia. Si tal resultase ser el caso, habríamos encontrado un respaldo de grandes implicaciones para establecer finalmente la naturaleza perturbadora del homeostasis del intervalo variable en comparación con el fijo.

El presente estudio tiende a respaldar la hipótesis que las situaciones adversas no-anticipables inducen mayores alteraciones a nivel homeostático que las situaciones adversas anticipables, cuando el diseño es de tipo no-contingente de la respuesta (non-response contingent situation). Los marcadores de glucosa plásmica y corticoesterona plásmica al no probarse significativamente diferentes, tanto en experimentales como en controles en el intervalo fijo, nos indican, como ya se mencionó, un mayor grado de habituación de parte del organismo. Por otra parte, la hipertrofia observada nos indicaría que el organismo aún está en la fase de resistencia del SGA. Las dos anteriores observaciones nos hacen pensar que existe una diferencia muy real entre los efectos de un intervalo variable y de uno fijo de inmovilización. En ambos se está notando que el organismo, aún 48 horas después de la última sesión de inmovilización, permanece en un nivel o fase de resistencia del SGA. La diferencia yace en que los marcadores de glucosa y corticoesterona demuestran alteraciones en el intervalo variable y no las demuestran en el intervalo fijo. Esto nos lleva a postular que en el intervalo variable se ha dado una disminución en el umbral de responsividad de tipo permanente ante la situación de adversidad no-predecible. Dicha disminución en el umbral de responsividad de tipo permanente consistiría en un mantenimiento de niveles alterados de activación adenohipofisial-adrenocortical y hipotalámico-simpático-adrenomedular.

El intervalo fijo, por otra parte, produce un mantenimiento de la fase de resistencia en la cual postularíamos que no se ha dado un cambio en el umbral de responsividad de los ejes anteriormente mencionados. Postularíamos que ambos después de 36 sesiones de inmovilización están en una fase de resistencia metabólica, pero que la diferencia entre ambas yace en que en el intervalo variable se ha producido un cambio en el umbral de responsividad bioquímica de



los marcadores de esa fase.

Lo anterior explicaría porqué el intervalo fijo demuestra "habitación" de las respuestas bioquímicas de la glucosa y la corticoesterona y el variable demuestra una perturbación continuada de las mismas, aunque ambas condiciones produzcan animales que aparentemente se hayan, aún, en la fase de resistencia después de 48 horas de la 36ava sesión de inmovilización (tal y como lo parece indicar la hipertrofia suprarenal en ambas).

Si de hecho dicho postulado se llegase a verificar en posteriores estudios encontraríamos quizá la causa y los mecanismos de la tensión nerviosa inducida. También, al estar postulando que un cambio permanente en el umbral de responsividad de los ejes mencionados constituye la base de la tensión nerviosa y que éste puede ser inducido sometiendo un reflejo incondicionado (inmovilización - SGA) a una inducción no predecible, se estaría implicando que el fenómeno de tensión nerviosa es "aprendido". Este último postulado que había sido sugerido anteriormente por Quirce (1974, 1976), encontraría pues una explicación causal en términos del cambio en el umbral ya mencionado.

Los datos reportados en lo que respecta a los niveles de lactato en suero sanguíneo, nos indican, al menos en lo que respecta al intervalo fijo, que dicho correlato no constituye un adecuado marcador del "stress". Como se mencionó en la sección 4 de Resultados, los aumentos de lactato parecen estar más ligados a niveles de activación muscular que a estados de tensión. Desde luego, esto último tendría que verificarse en grupos sometidos al intervalo variable. Ciertamente, como también se mencionó ya, en experimentación humana, existen correlatos muy marcados entre aumentos en niveles de ácido láctico y precipitación de ataques ansiosos.

La hipótesis adelantada en la sección 4, de que animales agrupados tienden a metabolizar glucosa por el ciclo Cori más que aislados, también debe ser investigada detenidamente en posteriores trabajos para determinar diferencias aeróbicas y anaeróbicas entre los dos grupos. Ciertamente, como indica Lehninger (1970), el metabolismo anaeróbico ocurre en organismos mamíferos sobre todo durante cortos periodos de activación muscular excepcionalmente vigorosas. Los altos niveles de lactato en animales controles agrupados que no están sometidos a excepcionales demandas energéticas (como lo podrían estar los inmovilizados) resulta algo sorprendente. La inmovilización de los experimentales agrupados, por otra parte, no aumenta significativamente los niveles de lactato sobre sus respectivos controles aunque sí la aumenta en los aislados. Esto nos lleva a pensar que el "stress" de inmovilización puede inducir una situación paradójica en la activación muscular al inducirla pero simultáneamente no permitir movimiento alguno en el animal. Animales con un tono muscular mayor debido a ejercicio interaccional (experimentales agrupados) no aumentarían el metabolismo celular muscular significativamente ante dicho caso, pero animales/que tienen poca oportunidad de ejercicio, registrarían aumentos significativos aún ante la situación de estimulación paradójica de la inmovilización.

Los cambios notados en ganancia de peso entre experimentales y controles de ambos grupos, ya han sido observados en la literatura (Brady et al, Shapiro et al y Paré et al), como se mencionó en la Introducción. Paré en otro estudio más reciente (1971) había notado disminución en la conducta consumatoria a nivel de comida y bebida en animales sometidos tanto a stress de "choque eléctrico" predecible como no-predecible. Dada la imposibilidad de medir adecuadamente el "consumo" propio de cada animal, el presente estudio se ha limitado a reportar diferencias en ganancias de pesos. Desde luego, dado

la naturaleza crónica del presente estudio no se puede descartar totalmente que el mantenimiento del animal en la fase de resistencia (tal y como lo indica la hipertrofia suprarenal), sufra un aumento leve en el intervalo fijo de metabolismo que permita mejor utilización (o al menos, mayor utilización) de los nutrientes. Por otra parte, el que los niveles de lactato (que son medición indirecta de activación muscular) no estén significativamente elevados en experimentales agrupados sobre sus controles, pero que si muestren menor ganancia de peso, argumenta en contra de un postulado de activación metabólica y mayor utilización del nutriente, al menos en el intervalo fijo.

A través de este estudio sobre el intervalo fijo de inmovilización, encontramos que, por lo general, la socialización no juega un papel de primera importancia en la disminución de los efectos observados a través de las treinta y seis sesiones. Esto tiende a contrastar marcadamente con los resultados obtenidos en el estudio de intervalo variable anterior (Quirce et al, 1977) en el que se observaba que, al menos, en razones peso suprarenal / peso cuerpo, había una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre experimental aislado y experimental agrupado (el primero siendo el mayor). Dicha diferencia no se encontró en los resultados del intervalo fijo.

V CONCLUSION

El presente trabajo representa un intento más de delinear los efectos bioquímicos y fisiológicos de los diversos horarios de presentación de la inmovilización física como estímulo incondicionado, inductor de la respuesta incondicionada de aumentos en el SGA.

A través de esta investigación se ha observado que existen diferencias fundamentales en la reacción del organismo al "stress" de inmovilización en función de la predicibilidad o no-predicibilidad de la presentación del mismo. Esto nos lleva a cuestionar seriamente el concepto de uniformidad de reacción postulado por Selye (1956) para el SGA. El anterior concepto que hoy en día se cuestiona (Quirce, 1974; Mason, 1975), fue en gran parte derivado en estudios de tensión aguda y no crónica. También, no incluyó la diferenciación en la secuencia de presentación del estímulo estresante (incondicionado o condicionado).

Se hace esencial pues, un cuestionamiento a fondo de nuestra conceptualización del "stress" mismo a nivel de paradigma teórico-experimental.

Esta investigación ha permitido postular la existencia de dos distintos tipos de reacción a la adversidad crónica: uno, en la cual el SGA se mantiene en un nivel de resistencia, y otro, en el cual se da un cambio longitudinalmente mantenido de la responsividad de los ejes adenohipofisial-adrenocortical e hipotalámico-simpático-adrenomedular. Se ha postulado además, que este último constituye un proceso de "aprendizaje" producto de someter el arco reflejo incondicionado (inmovilización-SGA) a presentaciones no-predicibles del estímulo incondicionado (horario de intervalo variable).

Dicho postulado nos abre, a la vez, una nueva posibilidad de comprensión de las bases causales de la tensión nerviosa en el hombre mismo.

BIBLIOGRAFIA

- BRADY, J.P., THORNTON, D.R. & DE FISHER, D. Deleterious effects of anxiety elicited by conditioned pre-aversive stimuli in the rat. *Psychosom. Med.* 24: 590-595, 1962
- BRONSON, F. H. & CHAPMAN, V.M. Adrenal-oestrous relationships in grouped or isolated female mice. *Nature* 213: 483-484, 1968
- COHEN, M.E. & WHITE, P.D. Life situations, emotions and neurocirculatory asthenia (anxiety neurosis, neurasthenia, effort syndrome). *Ass. Res. Nerv. Ment. Dis. Proc.* 29: 832- 1950.
- EVANS, J.E. & BODA, J.M. Glucose levels in stressed organisms. *Amer. J. Physiol.* 219: 893, 1970.
- FERRARO, D.P., SHOENFIELD, W.M. & SNAPPER, A.G. Adrenal hypertrophy in the rat as a function of probability and frequency of punishment. *Psychol. Rep.* 20: 795-802, 1967.
- FRIEDMAN, S.B. & ADER, R. Parameters relevant to the experimental productions of "stress" in the mouse. *Psychosom. Med.* 27: 27-30, 1965.
- HENDERSON, N.D. Physiological and behavioral effects of different sequences of preweaning shock in rats. *Psychosom. Med* 30: 62-71, 1968.
- HOLLAND, J. & SKINNER, B.F.: Análisis de la Conducta. Edit. Trillas, Méjico, 1974.
- LAPIN, B. & CHERKOVICH, G. Environmental changes causing the development of neurosis corticovisceral pathology in monkeys. En: Society, Stress and Disease, 266-279, Ed. Levi, Oxford University Press, New York, 1971.
- LEHNINGER, A.L. Biochemistry, 326-327. Worth Publishers, Inc. New York, 1970.
- MARTINEK, R.G. Clinical estimation of glucose in biologic fluids by a modified glucose oxidase method. *Official J. A.M.T.* 26: 444- 1964.
- MASON, J.W. A historical view of the stress field. *Journal of Human Stress*, 1: 6-12, 1975
- MAYES, P.A. Glucose mobilization during cold exposure. *Experientia*, 18: 451-1962.

- MCK. RIOCH, D. Transition states as stress. En: Society, Stress & Disease. 85-90. Ed.: L. Levi, Oxford University Press, New York, 1971
- PARE, W.P. Frequency and probability of Us-shock and adrenal hypertrophy in the rat. Physiol & Behav. 6: 493-496, 1971.
- PARE, W.P. Stress and consummatory behavior in the albino rat. Psychol. Rep. 16: 399-405, 1965.
- PITT, F.N. & McCLURE, J.N. Jr. Lactate metabolism in anxiety neurosis. N. Engl. J. Med. 277, 1329, 1967.
- QUIRCE, C.M., ODIO, M. & SOLANO, J.M. Resultados experimentales de un estudio sobre tensión nerviosa (stress). Avances de investigación N° 22, Instituto de Investigaciones Sociales, Universidad de Costa Rica, 1977
- QUIRCE, C.M. Una teoría nueva sobre el stress. Avances de investigación N° 6, Instituto de Investigaciones Sociales, Universidad de Costa Rica, 1976.
- QUIRCE, C.M. Some biochemical correlates of stress. Tesis doctoral inédita, Department of Pharmacology, Indiana University, 1974.
- QUIRCE, C.M. Un modelo biológico-social de las enfermedades psicosomáticas. Revista de Ciencias Sociales, N° 3, Universidad de Costa Rica, 1974.
- SAYERS, G & SAYERS, M.A. The pituitary adrenal system. Ann. N.Y. Acad. Sci. 50, 522-539, 1949.
- SELIGMAN, M. & MEYES, B. Chronic fear and ulcers in rats as a function of the unpredictability of safety, J. Comp. & Physiol. Psych. 73, 202, 1970.
- SELYE, H. The Stress of Life, McGraw Hill, New York, 1956.
- SELYE, H. Textbook of Endocrinology. Montreal: Acta Endocrinología, 837-867, 1949.
- SHAPIRO, A.P. & MELHADO, J. Observations on blood pressure and other physiologic and biochemical mechanisms in rats with behavioral disturbances. Psychosom. Med. 4, 303-313.
- WEISS, J. Somatic effects of predictable and unpredictable shock. Psychosom. Med. 32: 397-403, 1970.