

EFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA EN EL APRENDIZAJE Y LA RECUPERACIÓN DE UNA TAREA ESPACIAL EN RATAS EXPUESTAS A ESTRÉS AGUDO

EFFECTS OF CALORIC RESTRICTION ON LEARNING AND RECOVERY OF A SPATIAL TASK IN RATS EXPOSED TO ACUTE STRESS

**Silvana Claro¹, Magda Gamba²,
Alejandro Múnera³, Marisol Lamprea⁴**
Universidad Nacional de Colombia

RESUMEN

En el presente estudio son descritos los efectos de la restricción calórica en el aprendizaje y la recuperación de una tarea espacial en animales estresados antes de la recuperación de una tarea de aprendizaje espacial en el laberinto circular de Barnes. Para esto, ratas Wistar macho fueron sometidas a las condiciones: Ad libitum (AL) o Ayuno Intermitente (AI) durante un periodo de dos meses, luego del cual, ambos grupos fueron expuestos a una forma experimental de estrés agudo a través de la técnica de restricción de movimientos durante cuatro horas. Los sujetos AI mejoraron en las medidas de aprendizaje durante los primeros ensayos de la adquisición de la tarea, mientras que en la fase de evaluación, luego de aplicado el estresor, necesitaron más tiempo para realizar la tarea. Estos resultados son discutidos a la luz de los resultados descritos anteriormente en la literatura enfatizando las diferencias existentes entre los instrumentos utilizados para la evaluación del aprendizaje espacial y su posible interacción con el estrés inducido experimentalmente.

Palabras clave: memoria espacial, estrés agudo, restricción calórica, laberinto de Barnes.

ABSTRACT

The purpose of the present study was to describe the effects of caloric restriction on spatial learning and recovery in the Barnes maze in animals experimentally stressed before recovery of the spatial

1 Psicóloga Universidad Nacional de Colombia.

2 Estudiante Maestría en Fisiología, Universidad Nacional de Colombia.

3 Profesor Asociado Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

4 Profesora Asistente Departamento de Psicología, Universidad Nacional de Colombia. mlamprear@unal.edu.co

task. Male Wistar rats were exposed for two months to one of two conditions: ad libitum (AL) or intermittent fasting (IF). Both groups were exposed then to an experimental form of acute stress, induced by movement restriction for 4 hours. IF subjects had better performance in learning tasks during the acquisition trials but required more time to complete the task after the stressor was applied. These results are discussed in light of previous data reported in the literature emphasizing differences in the instruments used to evaluate spatial learning and its interaction with experimentally induced stress.

Key words: *spatial memory, acute stress, caloric restriction, Barnes maze*

INTRODUCCIÓN

El estudio de la relación entre estrés y aprendizaje ha sido objeto de interés para la neurociencia desde la publicación de las primeras descripciones de este fenómeno realizadas por el fisiólogo y médico Vienés Hans Selye en la década de los 30 (Selye, 1936). En general se ha encontrado que los sujetos expuestos a situaciones generadoras de estrés presentan alteraciones en el aprendizaje de diversas tareas, siendo la duración del estrés (agudo o crónico) y el tipo de tarea (aprendizaje espacial o aprendizaje relacional) factores importantes en la dirección de dichas alteraciones. Por ejemplo, Conrad planteó que la exposición aguda a situaciones de estrés antes de la adquisición deteriora la memoria de todas las tareas dependientes del hipocampo, mientras que la exposición al mismo tipo de estresor antes de la consolidación afecta tareas mínimamente aversivas y facilita el almacenamiento de tareas altamente aversivas (Conrad, 2005). Por otro lado, se reportó que la exposición al estresor antes de la recuperación de la tarea, puede mejorar la ejecución, un efecto también descrito por nuestro grupo utilizando la tarea de aprendizaje espacial con el laberinto circular de Barnes (Torres Berrío, 2006)

Como en otros aspectos de la cognición y la conducta, las condiciones del ambiente y la historia del organismo determinan la forma en que éste aprende y recupera la información adquirida. Es así como por ejemplo, la historia de restricciones en la disponibilidad del alimento se ha relacionado con la preservación de funciones cognitivas en la

vejez, en particular en el aprendizaje y la memoria (Duffy, Leakey, Pipkin, Turturro & Hart, 1997; Witte, Fobker, Gellner, Knecht & Floel, 2009). Ya a nivel experimental, se ha descrito que dicha preservación asociada a la restricción calórica se observa tanto en el desempeño de tareas de aprendizaje espacial como el laberinto radial de ocho brazos (Pitsikas & Algeri, 1992) o el laberinto acuático de Morris (Fitting, Booze, Gilbert & Mactutus, 2008; Martin, Mattson & Maudsley, 2006; Pitsikas, Carli, Fidecka & Algeri, 1990) como en el de tareas de aprendizaje no espacial como la evitación pasiva (Takahashi, Komiya & Goto, 2006). Información proveniente de otros estudios permite sugerir el mecanismo mediante el cual se podría dar cuenta de estos resultados. Bruce-Keller y colaboradores observaron que el procedimiento de ayuno intermitente (acceso libre a comida durante un periodo de 24 horas seguido por un periodo de ayuno de 24 horas) produce una resistencia de las neuronas hipocámpales a la degeneración inducida químicamente (Bruce-Keller, Umberger, McFall & Mattson, 1999). Por otro lado, Roberge observó que la exposición a este mismo procedimiento de restricción calórica fue capaz de revertir los efectos de la isquemia inducida en la región CA1 del hipocampo, mejorando la adquisición de una tarea de aprendizaje espacial en el laberinto radial de 8 brazos (Roberge, Hotte-Bernard, Messier & Plamondon, 2008). Más recientemente, ha sido descrito que el procedimiento de ayuno intermitente utilizado en la presente investigación,

produjo mejoras en los procesos de aprendizaje y recuperación, así como en la eficiencia sináptica y la expresión de la sub-unidad NR2B del receptor NMDA para glutamato (Fontan-Lozano, Lopez-Lluch, Delgado-Garcia, Navas & Carrion, 2008; Fontan-Lozano et al., 2007). Estos y otros trabajos reportados en la literatura en los que se busca evaluar los efectos de la restricción calórica en el aprendizaje se centran en la reversión del deterioro cognitivo relacionado con la edad (Halagappa et al., 2007) por lo que poco se sabe de los efectos de la restricción calórica en el aprendizaje en sujetos adultos jóvenes. Hasta donde sabemos, tampoco se ha evaluado la forma en la cual la restricción calórica puede alterar los efectos ya descritos del estrés en el aprendizaje. Por lo anterior, el propósito del presente estudio es evaluar el efecto de la restricción calórica en la recuperación de una tarea espacial en ratas adultas que han sido expuestas a un estresor antes de su evaluación. Como estresor se empleó el procedimiento de restricción de movimientos durante cuatro horas, el cual ha mostrado producir una prolongada elevación de los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas (Acosta, 2007) así como déficits en la recuperación de tareas de memoria espacial en el laberinto circular de Barnes (Torres Berrío, 2006). La restricción calórica, por su parte, fue inducida a través del procedimiento de ayuno intermitente. Los efectos de estos protocolos fueron evaluados en una tarea de aprendizaje espacial utilizando para ello el laberinto circular de Barnes.

MÉTODO

SUJETOS

Se utilizaron 17 ratas Wistar macho con un peso de 95.5g. (± 30) y aproximadamente 30 días de edad provenientes del Bioterio Central de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá. Una vez recibidos, los animales permanecieron en las instalaciones del Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Ani-

mal alojados en cajas de plexiglás en grupos de cuatro animales, distribuidos en dos condiciones: alimentación *Ad libitum* (AL) y Ayuno Intermitente (AI). El procedimiento de ayuno intermitente se inició inmediatamente después de la llegada de los animales, hasta que el peso de las ratas alimentadas *ad libitum* alcanzó los 300g (± 20) aproximadamente dos meses después. Durante su permanencia en el laboratorio, las ratas fueron expuestas a un ciclo de luz /oscuridad de 12 horas (con las luces encendidas a las 7:00 a.m.). Las sesiones experimentales se realizaron durante el ciclo de luz, entre las 7:00 y las 13:00 horas.

APARATOS

Laberinto Circular de Barnes

Para estudiar el aprendizaje de la tarea espacial se utilizó un laberinto circular de Barnes. Este instrumento consiste en una plataforma circular de 1.22 m de diámetro elevada 90 cm del piso elaborada en acrílico negro opaco. En la periferia de dicha plataforma se encuentran ubicados dieciocho agujeros circulares de 9 cm de diámetro espaciados entre sí por 20° de arco. En la cara inferior de la plataforma en comunicación con cada agujero, puede adosarse una caja de escape removible (caja meta) de 24 cm. de largo x 10 cm. de altura y 8.75 cm. de ancho. Una caja de forma circular (caja de inicio) es localizada en el centro de la plataforma al inicio de cada sesión cubriendo al animal y retirada con un sistema de poleas. El laberinto se encuentra localizado en una habitación iluminada por una luz roja de 60W y dos lámparas reflectoras de 150W ubicadas a dos metros del suelo. Adicionalmente, una fuente de sonido blanco de 90dB ubicada 150 cm por encima de la plataforma proporciona un estímulo sonoro de alta intensidad. En las paredes de la sala experimental se localizan estímulos visuales que no cambian a lo largo del entrenamiento y que han sido sugeridos como pistas contextuales que ayudan en la orientación del sujeto.

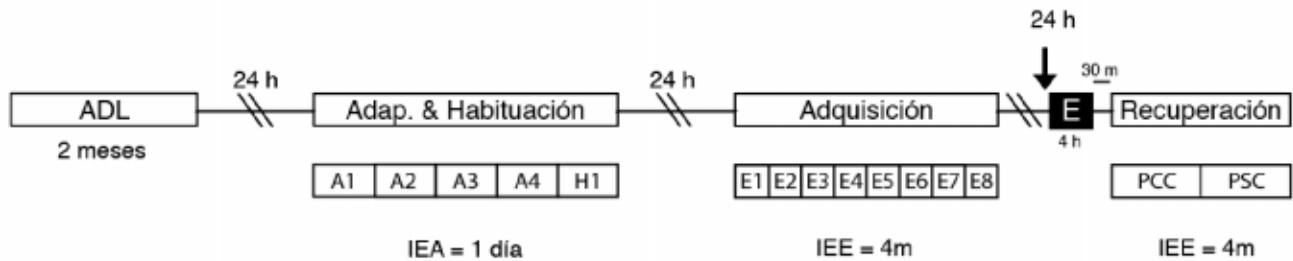
Almacenamiento de imágenes: Una cámara de video ubicada junto a la fuente de sonido y conectada a un grabador DVD permite el almacenamiento del comportamiento de los sujetos para su análisis posterior.

Restrictores

Para la inducción de estrés se emplean dos aparatos de restricción motora contruados en tubo PVC de 6 cm de diámetro con dos tapas laterales con perforaciones en una de sus caras que permiten respirar al animal.

Diseño Experimental

AD LIBITUM



AYUNO INTERMITENTE

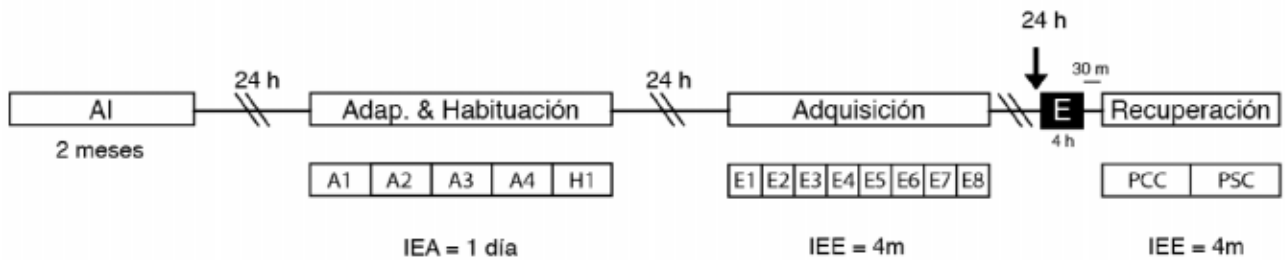


Figura 1. Diseño experimental. Grupos experimentales: Ad libitum (AL) y Ayuno Intermitente (AI). Abreviaturas: Adap: Adaptación (A1-A4: Día de adaptación 1 al 4); E1-E8: Ensayos de entrenamiento del 1 al 8; E: Inducción de estrés por restricción motora; PCC: Prueba con caja; PSC: Prueba sin caja; IEA: Intervalo entre A1, A2, A3, A4 y H1; IEE: Intervalo inter-ensayo.

PROCEDIMIENTO

Restricción Calórica

Aproximadamente a los 31 días de edad pos-natal, los sujetos fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos experimentales: *Ad libitum* (n=8) y

restricción calórica (n=9). El primer grupo tuvo acceso a agua y comida durante todo el experimento y el segundo fue expuesto a un esquema de ayuno intermitente con alimento a disposición 24 horas seguido por un periodo de 24 horas sin acceso a comida. Después de completado un periodo aproximado de dos meses, se permitió el libre

acceso a agua y comida para ambos grupos durante cuatro días (A1 a A4), al cabo de los cuales, se inició el aprendizaje de la tarea espacial.

Restricción Motora

Los animales de los dos grupos fueron expuestos al procedimiento de restricción motora el día de las pruebas de aprendizaje, para lo cual cada rata fue introducida en el restrictor entre las 7:00 y las 11:00 a.m. Una vez finalizado este periodo, cada animal fue llevado a su caja hogar donde permaneció 30 minutos antes de iniciar las pruebas.

Laberinto de Barnes

El entrenamiento en el Laberinto de Barnes fue dividido en tres fases: habituación, adquisición y recuperación. La primera fase consiste en una sesión de habituación al laberinto y a la sala de experimentación, la cual es realizada entre las 10:00 y 10:30 de la mañana. La organización de la sesión es la siguiente: a) el sujeto es introducido en la caja meta no emplazada en el laberinto durante dos minutos al cabo de los cuales se devuelve a la caja de consolidación por un minuto, b) el animal es introducido de nuevo en la caja meta, esta vez emplazada en el laberinto por un periodo de dos minutos, al cabo de los cuales es llevado a la caja de consolidación por un minuto, c) finalmente el animal se introduce en la caja de salida durante dos minutos. La fase de aprendizaje consistió en una sesión de ocho ensayos. Cada ensayo inicia cuando el animal es introducido en la caja de inicio por un periodo de 30 segundos. Al finalizar dicho intervalo se encienden los reflectores y la fuente de sonido, se levanta la caja de inicio y se le permite a la rata explorar el laberinto por un período máximo de cuatro minutos o hasta que encuentre la caja meta e introduzca las tres cuartas partes anteriores de su cuerpo. Después de cada ingreso, el animal permanece en la caja meta por un minuto, al cabo del cual, se retira del laberinto y se deja en una caja plástica por cinco minutos antes de seguir con el siguiente ensayo. Si pasa-

dos cuatro minutos la rata no ingresa a la caja meta, se introduce gentilmente en ella a través del agujero y se deja allí por un minuto.

Veinticuatro horas después de la última sesión de entrenamiento se lleva a cabo la fase de prueba del aprendizaje, la cual consiste en una prueba con caja (un ensayo idéntico a los ensayos de entrenamiento) y una prueba sin caja consistente en un ensayo de cuatro minutos en el cual la caja meta es retirada del laberinto.

VARIABLES EVALUADAS

En la fase de adquisición se observó: a) latencia de escape, tiempo en segundos que emplea el animal para encontrar la caja meta, b) errores de agujero, correspondiente al número de exploraciones por medio de golpes de la nariz o de deflexiones de la cabeza en agujeros diferentes al agujero meta o en éste sin ingresar, c) distancia recorrida, distancia relativa en centímetros entre la exploración de áreas, periferia y agujeros y d) velocidad del recorrido.

En la prueba con caja se estimaron los mismos parámetros que en la adquisición. Para la prueba sin caja, se midieron las siguientes variables: a) latencia de exploración del agujero meta y b) porcentaje de frecuencia de exploración del agujero meta y de los otros agujeros en relación con su posición con respecto al meta.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El promedio y error estándar de cada variable fue estimado y graficado en el programa Microsoft Office Excel. Los análisis inferenciales se realizaron por medio del paquete estadístico SIGMA STAT 3.1, aplicando pruebas de inferencia paramétrica a las medidas que cumplieron con el criterio de normalidad e igualdad de varianza. Como prueba post hoc para la determinación de las diferencias entre más de dos grupos se utilizó el método de comparaciones múltiples Holm Sidak. El nivel de significancia fue establecido en una probabilidad menor o igual a 0.05 en todos los casos.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los procedimientos se realizaron siguiendo las normativas nacionales e internacionales pertinentes: Resolución N° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud y Ley 84 del 27 de Diciembre de 1989. También se observaron los procedimientos para el manejo y cuidado de animales de laboratorio recomendados por la normativa de la unión Europea (8616091EU) y del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América (National Research Council, 1996).

RESULTADOS

PESOS

Al final del periodo de restricción calórica, los animales del grupo *Ad libitum* presentaban un peso corporal promedio de 347,3 g ± 81.8, mientras que los animales del grupo expuesto al esquema de ayuno intermitente mostraron un peso prome-

dio de 305,5 g ± 73,9. Estos pesos no fueron significativamente diferentes de acuerdo a una comparación realizada con la prueba *t* de Student, $t(18) = t = 1,672; p = 0,103$.

ADQUISICIÓN

La Figura 2 muestra la latencia de llegada al agujero meta durante los 8 ensayos de entrenamiento y la prueba con caja realizada veinticuatro horas después del último ensayo de adquisición. Un análisis de varianza para medidas repetidas realizado para cada grupo, mostró diferencias significativas en el tiempo empleado para encontrar la caja de salida para ambos grupos a lo largo de los ensayos de entrenamiento, $F(7,61) = 7,776; p < 0,001$ para el grupo AL y $F(8,71) = 4,575; p < 0,001$ para el grupo AI, y una reducción significativa en la latencia del ensayo 1 comparado con el 8 para ambos grupos. Un prueba *t* comparando las latencias de los grupos AL y AI en el ensayo 1 mostró una reducción significativa para el grupo AI ($t_{13} = 2,436; p = 0,03$).

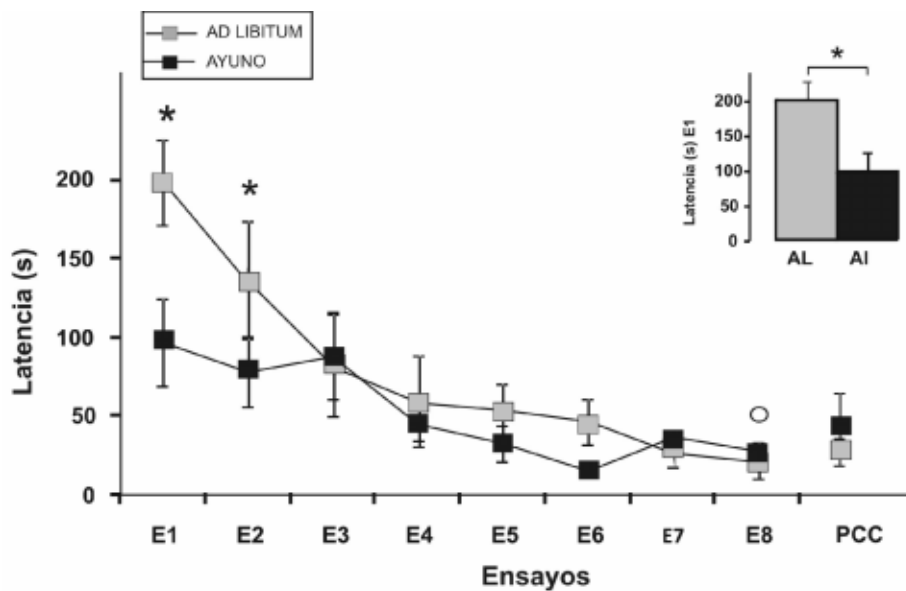


Figura 2. Promedio (±SEM) de la latencia de llegada al agujero meta durante la fase de entrenamiento y prueba con caja. Inserto: Promedio (± SEM) de la latencia de llegada al agujero meta durante el primer ensayo de la fase de entrenamiento. Símbolos: (*) Diferencias significativas entre grupos. (°) Diferente significativamente del ensayo 1 para ambos grupos. Abreviaturas: AI: Ayuno Intermitente. AL: *Ad libitum*. ($p < 0,05$)

Adicionalmente, la comparación entre el último ensayo de entrenamiento y la prueba sin caja no mostró diferencias significativas para ninguno de los grupos ($t_7 = -0,130$; $p = 0,900$ para el grupo AL; $t_8 = -1,102$; $p = 0,302$ para el grupo AI).

En la figura 3 se pueden observar los errores de exploración de agujeros durante la sesión de entrenamiento. El análisis de varianza para medidas repetidas mostró reducciones en el número de errores a lo largo de los ensayos para ambos grupos, $F(7,61) = 7,740$; $p < 0,001$ para el grupo AL y

$F(7,71) = 4,610$; $p < 0,001$ para el grupo AI. Para ambos grupos, el análisis pos hoc mostró diferencias significativas entre los ensayos 1 y 8. Una prueba t comparando las latencias de los grupos AL y AI en el ensayo 1 no mostró diferencias significativas ($t_{13} = 1,536$; $p = 0,148$).

Adicionalmente, la comparación entre el último ensayo de entrenamiento y la prueba sin caja no mostró diferencias significativas para ninguno de los grupos ($t_7 = -0,837$; $p = 0,430$ para el grupo AL; $t_8 = 0,000$; $p = 1,000$ para el grupo AI).

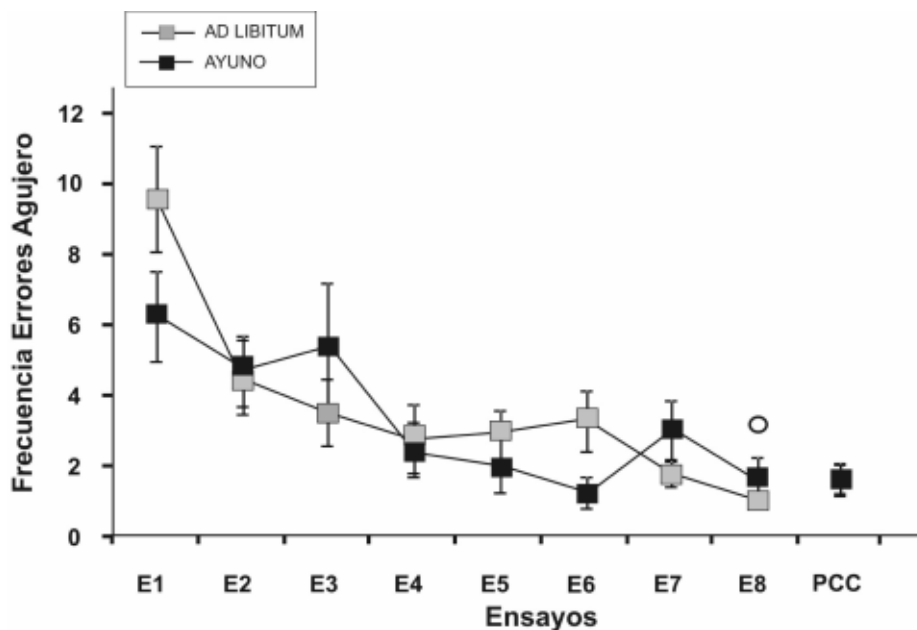


Figura 3. Promedio (\pm SEM) de errores de agujero durante la fase de entrenamiento y prueba con caja. Símbolos: (°) Diferente significativamente del ensayo 1 para los dos grupos. ($p < 0,05$).

Para la distancia recorrida en centímetros durante la sesión de entrenamiento el ANOVA de una vía para medidas repetidas refleja disminuciones significativas para el grupo *Ad libitum* (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), $H(7) = 29,104$; $p = < 0,001$, a lo largo de las ocho sesiones de entrenamiento, así como para el grupo AI (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), $H(7) = 22,401$; $p = 0,002$. Comparaciones planeadas no muestran diferencias significativas entre los grupos en ningún ensayo.

Por otro lado, un ANOVA realizado con las velocidades de recorrido para cada grupo no mostró diferencias significativas entre los ensayos para el grupo *Ad libitum* $F(7,62) = 1,873$; $p = 0,092$ ni para los animales del grupo AI $F(7,71) = 1,168$; $p = 0,333$. Comparaciones planeadas entre los grupos en cada ensayo solo mostraron un incremento

de errores a lo largo de los ensayos para ambos grupos, $F(7,61) = 7,740$; $p < 0,001$ para el grupo AL y $F(7,71) = 4,610$; $p < 0,001$ para el grupo AI. Para ambos grupos, el análisis pos hoc mostró diferencias significativas entre los ensayos 1 y 8. Una prueba t comparando las latencias de los grupos AL y AI en el ensayo 1 no mostró diferencias significativas ($t_{13} = 1,536$; $p = 0,148$). Adicionalmente, la comparación entre el último ensayo de entrenamiento y la prueba sin caja no mostró diferencias significativas para ninguno de los grupos ($t_7 = -0,837$; $p = 0,430$ para el grupo AL; $t_8 = 0,000$; $p = 1,000$ para el grupo AI).

en la velocidad de recorrido para los animales del grupo AI en el segundo ensayo de entrenamiento ($t_{15} = -2,916; p = 0,011$).

EVALUACIÓN (PRUEBA SIN CAJA)

En el segundo ensayo de evaluación, cuando la caja fue retirada, los análisis estadísticos presentados en la Figura 4 muestran que la latencia de exploración del agujero meta fue diferente para los dos grupos (Mann-Whitney ; $U = 49.000 p = 0.050$).

Finalmente, se comparó el porcentaje de exploración del agujero meta en relación con el porcentaje de exploración de los demás agujeros. En el grupo AL se observan diferencias significativas entre el porcentaje de exploración de los agujeros (Friedman; Chi-square (17) = 55.888, $p = <0.001$). Las comparaciones post hoc indican diferencias significativas entre la exploración del agujero meta y agujeros opuestos (5,6,7,8,9; ver Figura 5)($p <0.05$).

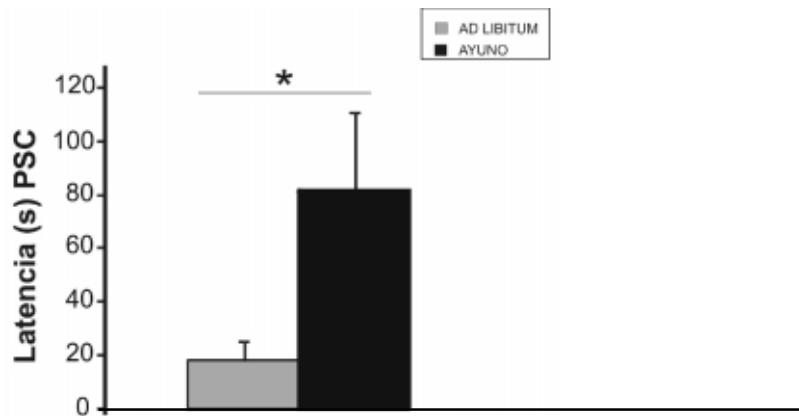


Figura 4. Promedio (± SEM) de la latencia de exploración de agujero meta durante la prueba sin caja. Símbolo: (*) Diferencias significativas entre grupos. ($p < 0.05$).

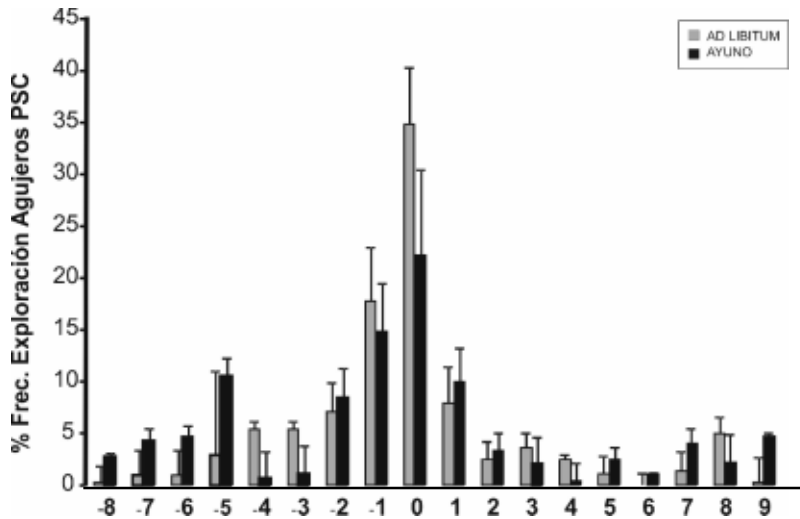


Figura 5. Promedio (± SEM) del porcentaje del porcentaje de exploración de cada agujero durante la prueba sin caja. 0 corresponde al agujero meta en la fase de entrenamiento.

En el grupo AI el análisis estadístico muestra diferencias entre agujeros (Friedman; Chi-square $(17) = 41.117, p = <0.001$) sin embargo la prueba post hoc indica que no existen diferencias significativas entre el porcentaje de exploración del agujero meta y el porcentaje de exploración de otros agujeros. Comparaciones entre los grupos en la exploración de cada agujero no muestran diferencias significativas entre los grupos.

DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos del acceso diferencial al alimento durante el desarrollo posnatal sobre el aprendizaje de una tarea de aprendizaje espacial en animales expuestos a estrés agudo antes de la prueba de recuperación de la tarea. Concretamente se buscó responder a los siguientes interrogantes 1. ¿Una historia de restricción calórica temprana modifica la forma en que un organismo aprende una tarea espacial?, 2. ¿La restricción calórica temprana modifica la forma en que animales expuestos a un estresor antes de la evaluación recuperan una tarea espacial previamente aprendida?

La restricción alimenticia cambia la forma en que los animales adquieren una tarea espacial en el laberinto de Barnes: Los resultados presentados muestran que los dos grupos aprendieron. Sin embargo, los animales expuestos a la condición de ayuno intermitente presentan un nivel más bajo para las medidas de latencia y errores de agujero, mostrando además latencias en general más bajas durante la sesión. Los sujetos al momento de la evaluación comportamental llevaban cuatro días en condiciones de alimentación *ad libitum* por lo tanto esta diferencia es producto de la historia de restricción calórica en edad temprana y no un factor motivacional primario, de la forma en que es utilizado en otros paradigmas como el laberinto radial o el condicionamiento operante.

Como ya se mencionó, la mayoría de los estudios en los que se manipula el régimen alimentario evalúan sus efectos en el envejecimiento. Es así

como Wu y Fitting reportan que la restricción revierte el deterioro cognitivo producto de la edad (Fitting et al., 2008; Wu, Sun & Liu, 2003). Sin embargo, este mismo autor observó una mejora en el aprendizaje de una tarea espacial en ratas de seis meses de edad expuestas al mismo régimen de restricción calórica, mostrando que este efecto no sólo revierte los cambios cognitivos relacionados con la edad sino que tiene efecto en sujetos adultos (Fitting et al., 2008). Como una explicación a este fenómeno, el autor sugiere que los efectos observados podrían ser atribuidos a un efecto motor, relacionado con la condición de restricción calórica. Sin embargo, en nuestro estudio no se observaron diferencias entre los grupos para la velocidad de recorrido, ni siquiera en el primer ensayo en el que claramente se observan diferencias en la latencia para encontrar el agujero meta.

Nuestros resultados apuntan más al uso de estrategias diferentes para encontrar la caja meta en los animales expuestos a la restricción calórica, pues una vez parecen emplear una estrategia espacial que consiste en ejecutar máximo un error de agujero, mientras que en los ensayos subsiguiente exploran de manera indiscriminada agujeros distantes al meta. En la literatura consultada no se encontraron estudios interesados en evaluar el tipo de estrategias de aprendizaje empleadas por los sujetos expuestos a una condición de restricción calórica y sólo a partir de la observación del recorrido no es posible concluir qué tipo de estrategia usan los animales pero este puede ser el inicio de un análisis más detallado y de una posible medición del fenómeno.

Los animales expuestos a restricción calórica durante la edad temprana no tienen una mejora en la recuperación de la tarea de aprendizaje espacial al ser expuestos a un estresor agudo antes de la evaluación. A diferencia de lo observado en la fase de adquisición, no se encontraron diferencias significativas en el comportamiento de los animales expuestos al ayuno intermitente con relación a los animales control en la fase de recuperación de la tarea espacial. Aparentemente, la

historia de restricción calórica no afectó la respuesta de estos animales ante el estresor en esta tarea espacial. El día siguiente al entrenamiento los animales de los dos grupos retienen la tarea de aprendizaje espacial, pues no se observan diferencias significativas para la latencia de llegada al agujero meta ni para los errores de agujero en la prueba con caja. En el segundo ensayo de evaluación, esta vez sin la caja meta emplazada en el agujero, se observan diferencias entre los grupos, siendo que los animales expuestos a la condición de ayuno intermitente emplearon más tiempo en encontrar el agujero meta en comparación con los animales control. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de exploración del agujero meta ni en la exploración general de los agujeros. Estos resultados concuerdan parcialmente con lo descrito por otros autores, quienes han descrito que en tareas de aprendizaje espacial y no espacial los animales expuestos a restricción calórica mejoran la adquisición de la tarea aun cuando su desempeño es similar al grupo *Ad libitum* en la evaluación (Fitting et al., 2008; Wu et al., 2003). Por ejemplo, Lukoyanov y colaboradores observaron que la restricción calórica durante 3 meses mejora el aprendizaje tiempo-lugar en el laberinto acuático de Morris aunque durante la prueba sin la plataforma los animales de los grupos *Ad libitum* y restricción se comportan igual (Lukoyanov, Pereira, Mesquita & Andrade, 2002). En estudios con animales de avanzada edad se ha observado algo similar, siendo que la restricción calórica mejora la adquisición de la tarea pero parece afectar el desempeño en las pruebas de retención en el laberinto de Morris (Fitting et al., 2008). Ha sido descrito que el laberinto circular de Barnes tiene una ventaja frente al Laberinto Acuático de Morris en la fase de evaluación, pues permite estudiar la retención del aprendizaje espacial mediante dos ensayos por separado: uno con caja (PCC) que muestra la retención de la ejecución una vez finalizado el entrenamiento y otro sin caja (PSC) que señala la retención de la ubicación espacial de la meta me-

dante la persistencia en la exploración del agujero meta. En el paradigma de Morris sólo se realiza una prueba sin la plataforma que evalúa la preferencia espacial (de Quervain, Roozendaal & McGaugh, 1998; Morris, 1981). En este estudio observamos que una historia de ayuno intermitente desde la edad temprana cambia la forma en que los animales retienen la ejecución en una tarea espacial pero no la retención de una preferencia espacial. En este estudio vemos cómo una historia de restricción alimenticia desde la edad temprana puede cambiar la forma en que los sujetos responden a un estresor, ya que la restricción de movimiento durante cuatro horas no alteró la recuperación de la tarea espacial. En otros estudios en los que se utilizan paradigmas distintos de aprendizaje espacial (laberinto acuático de Morris o laberinto radial), se ha observado que en la restricción calórica el estrés puede generar un deterioro en la retención de la ejecución de la tarea espacial. Esta discrepancia puede ser explicada por las características mismas del instrumento utilizado. Ha sido descrito que los niveles de estrés inducidos por el laberinto circular de Barnes son significativamente inferiores a los inducidos por el laberinto acuático de Morris, en el cual las manipulaciones realizadas con distintos tipos de estresores pueden sumarse al carácter aversivo de esta tarea (Coburn-Litvak, Pothakos, Tata, McCloskey & Anderson, 2003; McLay, Freeman & Zadina, 1998; Williams et al., 2003). Un estudio reciente evaluó empíricamente la diferencia en las concentraciones de corticosterona liberadas a partir de la experiencia en el laberinto acuático de Morris y en el laberinto de Barnes, encontrando no solo que el primero induce una mayor liberación de corticosterona, sino además, un efecto acumulativo de dicha liberación cuando se suma a un paradigma de inducción experimental de estrés por restricción motora (Harrison, Hosseini & McDonald, 2009). De esta forma, es posible que los efectos observados tras la experiencia de restricción calórica en los trabajos reportados en la literatura se deban a un efecto acumulativo del estrés y de la

tarea de aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris. Debido a que, hasta donde sabemos no existen trabajos en los que se haya utilizado el laberinto circular de Barnes para evaluar los efectos de la historia de restricción calórica y el estrés, no es posible llegar a conclusiones más definitivas. Igualmente, se hace necesario comparar estos resultados con grupos expuestos a la situación de aprendizaje bajo condiciones de ayuno intermitente y *ad libitum* sin presencia del estresor.

Estudios posteriores serán necesarios para alcanzar una mejor comprensión de la interacción entre estos dos fenómenos aplicados antes de las pruebas de recuperación en el laberinto circular de Barnes.

REFERENCIAS

- Acosta, A. (2007). *Determinación de niveles de corticosterona en Rattus norvegicus sometidas a estrés agudo por restricción de movimiento*. Trabajo de grado no publicado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Bruce-Keller, A. J., Umberger, G., McFall, R. & Mattson, M. P. (1999). Food restriction reduces brain damage and improves behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults. *Annals of Neurology*, 45(1), 8-15.
- Coburn-Litvak, P. S., Pothakos, K., Tata, D. A., McCloskey, D. P. & Anderson, B. J. (2003). Chronic administration of corticosterone impairs spatial reference memory before spatial working memory in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(1), 11-23.
- Conrad, C. D. (2005). The relationship between acute glucocorticoid levels and hippocampal function depends upon task aversiveness and memory processing stage. *Nonlinearity in Biology, Toxicology, Medicine*, 3(1), 57-78.
- de Quervain, D. J., Roozendaal, B. & McGaugh, J. L. (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature*, 394(6695), 787-790.
- Duffy, P. H., Leakey, J. E., Pipkin, J. L., Turturro, A. & Hart, R. W. (1997). The physiologic, neurologic, and behavioral effects of caloric restriction related to aging, disease, and environmental factors. *Environmental Research*, 73(1-2), 242-248.
- Fitting, S., Booze, R. M., Gilbert, C. A. & Mactutus, C. F. (2008). Effects of chronic adult dietary restriction on spatial learning in the aged F344 x BN hybrid F1 rat. *Physiology and Behavior*, 93(3), 560-569.
- Fontan-Lozano, A., Lopez-Lluch, G., Delgado-Garcia, J. M., Navas, P. & Carrion, A. M. (2008). Molecular Bases of Caloric Restriction Regulation of Neuronal Synaptic Plasticity. *Molecular Neurobiology*, 38(2), 167-177.
- Fontan-Lozano, A., Saez-Cassanelli, J. L., Inda, M. C., de los Santos-Arteaga, M., Sierra-Dominguez, S. A., Lopez-Lluch, G., et al. (2007). Caloric restriction increases learning consolidation and facilitates synaptic plasticity through mechanisms dependent on NR2B subunits of the NMDA receptor. *The Journal of Neuroscience*, 27(38), 10185-10195.
- Halagappa, V. K., Guo, Z., Pearson, M., Matsuoka, Y., Cutler, R. G., Laferla, F. M., et al. (2007). Intermittent fasting and caloric restriction ameliorate age-related behavioral deficits in the triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 26(1), 212-220.
- Harrison, F. E., Hosseini, A. H. & McDonald, M. P. (2009). Endogenous anxiety and stress responses in water maze and Barnes maze spatial memory tasks. *Behavioural Brain Research*, 198(1), 247-251.
- Lukoyanov, N. V., Pereira, P. A., Mesquita, R. M. & Andrade, J. P. (2002). Restricted feeding facilitates time-place learning in adult rats. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2), 283-290.
- Martin, B., Mattson, M. P. & Maudsley, S. (2006). Caloric restriction and intermittent fasting: two potential diets for successful brain aging. *Ageing Research Reviews*, 5(3), 332-353.
- McLay, R. N., Freeman, S. M. & Zadina, J. E. (1998). Chronic corticosterone impairs memory performance in the Barnes maze. *Physiology and Behavior*, 63(5), 933-937.
- Morris, R. G. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, 12(2), 239-260.
- Pitsikas, N. & Algeri, S. (1992). Deterioration of spatial and nonspatial reference and working memory in aged rats: protective effect of life-long calorie restriction. *Neurobiology of Aging*, 13(3), 369-373.
- Pitsikas, N., Carli, M., Fidecka, S. & Algeri, S. (1990). Effect of life-long hypocaloric diet on age-related changes in motor and cognitive behavior in a rat population. *Neurobiology of Aging*, 11(4), 417-423.
- Roberge, M. C., Hotte-Bernard, J., Messier, C. & Plamondon, H. (2008). Food restriction attenuates ischemia-induced spatial learning and memory deficits despite extensive CA1 ischemic injury. *Behavioural Brain Research*, 187(1), 123-132.
- Selye, H. (1936). A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*, 138, 32-34.
- Takahashi, R., Komiya, Y. & Goto, S. (2006). Effect of dietary restriction on learning and memory impairment and histologic alterations of brain stem in senescence-accelerated mouse (SAM) P8 strain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1067, 388-393.
- Torres Berrío, A. A. (2006). *Efectos del estrés agudo por restricción motora en la recuperación y extinción de una tarea de aprendizaje espacial en ratas*. Tesis de grado no publicada, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Williams, M. T., Blankenmeyer, T. L., Schaefer, T. L., Brown, C. A., Gudelsky, G. A. & Vorhees, C. V. (2003). Long-term effects of neonatal methamphetamine exposure in rats on spatial learning in the Barnes maze and on cliff avoidance, corticosterone release, and neurotoxicity in adulthood.

- Brain research. Developmental Brain Research*, 147(1-2), 163-175.
- Witte, A. V., Fobker, M., Gellner, R., Knecht, S. & Floel, A. (2009). Caloric restriction improves memory in elderly humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 106(4), 1255-1260.
- Wu, A., Sun, X. & Liu, Y. (2003). Effects of caloric restriction on cognition and behavior in developing mice. *Neuroscience Letters*, 339(2), 166-168.

Fecha de envío: 12 de abril de 2009

Fecha de aceptación: 14 de mayo de 2009