

I 01921
87



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE PSICOLOGIA

**DISGENESIS CEREBRAL Y DEFICIT CONDUCTUAL EN UN
MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL DE ESTRES**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGIA**

P R E S E N T A:

BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALFONSO ESCOBAR IZQUIERDO

SINODALES: DR. FRUCTUOSO AYALA GUERRERO

DR. RAUL AVILA SANTIBAÑEZ

MTRA. IRMA ZALDIVAR MARTINEZ

DR. CESAR CASASOLA CASTRO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

MEXICO, D. F.

NOVIEMBRE 2003



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. PSICOLOGIA.**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres Beatriz E. González y Armando Gómez

A mis hermanas Ada y Nadia

A Jorge

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo intelectual.

NOMBRE: Beatriz Gómez

González

FECHA: 14 noviembre 2003

FIRMA: 

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) por el apoyo económico brindado al presente proyecto de investigación, que forma parte del proyecto titulado: "Migración neuronal anormal, disgénesis cerebral y estrés en un modelo experimental en rata", proyecto IN220102-3, a cargo del Dr. Alfonso Escobar.

La autora agradece al Dr. Alfonso Escobar Izquierdo por la valiosa contribución a su formación académica, por el apoyo brindado en la planeación y puesta en marcha del presente proyecto de investigación y por inculcarle la pasión por la investigación científica.

La autora agradece a los Técnicos Apolinar Olvera Plata y Juan Padrón por su valiosa ayuda en la realización de las técnicas histológicas empleadas en el presente proyecto.

Se agradece a los sinodales Dr. Fructuoso Ayala Guerrero, Dr. Raúl Ávila Santibañez, Mtra. Irma Zaldivar Martínez y Dr. Cesar Casasola Castro por sus valiosos comentarios relativos al presente trabajo.

La autora agradece a Guadalupe Flores Cruz por su participación en la puesta en marcha de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	VI
RESUMEN	1
ESTRÉS	2
DEFINICIÓN	2
LA RESPUESTA DEL ORGANISMO	3
Características fisiológicas	3
Características conductuales	6
MANIPULACIONES AMBIENTALES	9
CONSECUENCIAS PATOLÓGICAS DEL ESTRÉS	10
EFFECTOS DEL ESTRÉS SOBRE EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO	11
ESTRÉS PRENATAL	13
ESTRÉS POSTNATAL	15
ESTRÉS PRENATAL O POSTNATAL Y APRENDIZAJE	17
ESTRÉS PRENATAL Y CONDUCTA DE NADO	19
PROPÓSITO DEL ESTUDIO	20
MÉTODO	22
Sujetos	22
Material	22
Procedimiento	22
Adaptación a las condiciones experimentales	23

Estrés prenatal	24
Privación selectiva de sueño MOR	24
Nado forzado	25
Estrés postnatal	26
Nado forzado	26
Aprendizaje de lugar	27
Entrenamiento en el laberinto de Barnes	27
Sistema nervioso	29
RESULTADOS	30
Peso corporal	30
Edad de apertura de los ojos	31
Conducta de nado	32
Aprendizaje de lugar	37
Sistema nervioso	40
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIÓN	56
REFERENCIAS	57

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1	Diseño Experimental del presente trabajo.	23
Tabla 2	Edad de apertura de los ojos	32
Tabla 3	Valores del estadístico F para X1 en tasa de actividad.	37
Tabla 4	# Ensayo en que se alcanza el criterio de aprendizaje en el laberinto de Barnes.	39

FIGURAS

Figura 1	Circuitos nerviosos implicados en la respuesta del organismo al estrés.	5
Figura 2	Gráfica de peso corporal de las crías en los días P2-20.	31
Figura 3	Gráfica de la duración de la sesión de nado de las crías en los días P2 a P19.	33
Figura 4	Gráfica de actividad total (número de cruces) durante la sesión de nado de las crías en los días P2 a P19.	34
Figura 5	Tasa de actividad por grupos en los días P2 a P19.	36
Figura 6	Microfotografía de neocorteza. Técnica de Klüver-Barrera.	41
Figura 7	Microfotografía del sector CA1 del hipocampo. Técnica de Klüver-Barrera.	42
Figura 8	Microfotografía de la corteza cerebelosa. Técnica rápida de Golgi.	43

Resumen

El propósito del presente trabajo fue investigar los efectos del estrés pre y/o postnatal sobre la migración neuronal, el aprendizaje de lugar y la conducta de nado de ratas. Se usaron 12 ratas gestantes y sus crías, las primeras se dividieron en cuatro grupos para la fase de estrés prenatal (días 10-20 gestación): privación sueño MOR, nado forzado, privación sueño MOR-nado y control. Después del nacimiento se dividió a las camadas en dos: nado y control (días postnatales 2-19). Así, se formaron los grupos: estrés prenatal, pre-postnatal, postnatal y control. Se encontró que las crías bajo estrés prenatal y pre-postnatal pesaron más y abrieron los ojos 1 día antes que los controles ($p < 0.05$). Las crías bajo estrés prenatal nadaron más tiempo y con un nivel de actividad mayor que los controles ($p < 0.05$). Las crías de los grupos estrés prenatal y pre-postnatal necesitaron más ensayos para aprender una tarea de aprendizaje de lugar. Finalmente, se encontraron desarreglos citoarquitectónicos en arquicorteza y neocorteza de crías de los grupos estrés prenatal y pre-postnatal. Así, se concluyó que el estrés prenatal y pre-postnatal aceleró la maduración corporal, alteró la migración neuronal y que el estrés prenatal aumentó la magnitud de la respuesta al estrés en las crías.

Estrés

Definición

El término estrés tiene su origen en el vocablo latino *stringere*, que significa oprimir, apretar o atar. Antes de su uso en las ciencias biológicas, el término estrés se empleó en el campo de la ingeniería para denotar fuerzas que actúan contra una resistencia y para hacer referencia a la fuerza que aplicada sobre una estructura o un metal conduce a la deformación. En la década de 1930 Selye introdujo el término estrés a las ciencias biológicas y lo definió como "*el estado del organismo manifestado por un síndrome específico que se constituye de todos los cambios inespecíficos inducidos dentro de un sistema biológico*" (Selye, 1956, pag. 54).

Después de la definición inicial, el término estrés se ha usado para denotar tres condiciones diferentes: por un lado, se emplea para denotar un estímulo, un estado, o bien, una respuesta del sujeto. El término estrés como estímulo se usa para denotar a cualquier evento que perturba seriamente la homeostasis del organismo, esto es, que altera el equilibrio en el medio interno, necesario para la vida del organismo (Sapolsky, 1998; Kim & Diamond, 2002; McEwen, 2000, 2000a). Por otro lado, el término estrés también se ha empleado para denotar el estado de desequilibrio del medio interno (disrupción de la homeostasis) del organismo (Selye, 1936, 1950, 1956; Chrousos, 1998; Chrousos & Gold, 1992). Finalmente, el término estrés se ha usado también para hacer referencia a la respuesta del organismo a la estimulación aversiva (Nelson, 2000; McEwen, 2000, 2000a; Sapolsky, 1998; Ursin, 1994).

En el presente trabajo se adoptó una definición que incluye dos de las denotaciones previamente descritas del concepto estrés, estrés como estímulo y estrés como respuesta. La definición de estrés que se usa en este estudio tiene como base la

definición general que el análisis experimental de la conducta hace de cualquier emoción. De acuerdo con el análisis experimental de la conducta cualquier emoción está definida por la relación funcional entre ciertas operaciones ambientales antecedentes y la respuesta, fisiológica y conductual, subsecuente del organismo (Keller & Schoenfeld, 1950). Así, se usó la definición que elaboraron Bruner y Vargas (1994), estrés como la relación funcional entre estímulos aversivos y las respuestas conductuales y fisiológicas del organismo subsecuentes a la estimulación.

La respuesta del organismo

Características Fisiológicas

Selye (1936) describió por primera vez la respuesta al estrés como Síndrome General de Adaptación o Síndrome de Estrés. Encontró que exponer a los organismos a agentes aversivos, cualesquiera que fuera su naturaleza (físicos o psicológicos), producía hipertrofia de las glándulas suprarrenales, involución del timo y de los ganglios linfáticos y aparición de úlceras pépticas.

Selye (1936) describió tres fases del Síndrome General de Adaptación: fase de alarma, fase de resistencia o adaptación y fase de agotamiento o desgaste. La fase de alarma aparece entre 6 y 48 horas posteriores a la exposición del sujeto a agentes aversivos. Durante esta fase se activan el sistema nervioso simpático y la corteza y médula de las glándulas suprarrenales con la finalidad de movilizar los recursos energéticos necesarios para hacer frente a la situación aversiva (Cannon, 1929; Selye, 1950). Adicionalmente, durante la fase de alarma se presentan decremento en el tamaño del timo y de los ganglios linfáticos y reducción de la temperatura corporal. En la fase de resistencia o adaptación el organismo se adapta momentáneamente a la presencia del agente nocivo y las reacciones fisiológicas desaparecen. La fase de resistencia inicia

aproximadamente después de 48 hrs. de exposición al estrés y se caracteriza por hipertrofia de las glándulas suprarrenales. La tercera y última fase, etapa de agotamiento o desgaste, aparece cuando el estrés se mantiene por períodos prolongados de tiempo, se caracteriza por la imposibilidad del organismo para continuar afrontando al estrés. Durante la fase de agotamiento se presentan las enfermedades de adaptación, que son producto del estrés, e incluso el organismo puede morir (Selye, 1950).

Actualmente se considera que el eje hipotálamo - hipófisis - glándulas suprarrenales es el principal efector de la respuesta fisiológica al estrés (Figura 1). La subdivisión medial parvicelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) secreta dos neurohormonas en los capilares del sistema circulatorio portahipofisiario, el factor liberador de la corticotrofina (CRF o CRH) y la arginina-vasopresina. Ambas neurohormonas tienen como órgano blanco a las células corticotróficas de la adenohipófisis o hipófisis anterior y se secretan de manera circádica (Chrousos, 1998) en la capa externa de la eminencia media (Cullinan, Herman, Helmrich & Watson, 1995) con picos máximos de liberación antes de los períodos de gran actividad de los animales (Chrousos, 1998). Las células corticotróficas en la adenohipófisis liberan a su vez hormona adrenocorticotrófica (ACTH) en el torrente sanguíneo, la cual tiene su órgano blanco en las células de la corteza de las glándulas suprarrenales (CS). Las glándulas suprarrenales poseen dos partes anatómica y funcionalmente diferentes: la médula y la corteza, que secretan adrenalina y hormonas esteroideas (glucocorticoides y mineralocorticoides), respectivamente. La corteza de las glándulas suprarrenales está formada de tres partes: glomerulosa, fasciculada y reticular. Las partes fasciculada y reticular secretan glucocorticoides (Kannan, 1988; Nelson, 2000), principalmente cortisol en el ser humano (cort) o corticosterona en la rata, en respuesta a la estimulación

del ACTH (Kollack-Walker, Day & Akil, 2000; Watts, 2000). Los glucocorticoides son los efectores finales del eje hipotálamo-hipófisis-glándulas suprarrenales y los principales reguladores del mismo, esto lo hacen mediante un sistema de retroalimentación negativa con receptores que se localizan en la hipófisis, el hipotálamo y otras regiones del sistema nervioso central como el hipocampo (H), el locus coeruleus, algunos núcleos de los nervios craneales, el núcleo central de la amígdala (A), la corteza prefrontal (CPF) (Cullinan, et al., 1995), el septum lateral (Bakshi, Smith-Roe, Newman, Grigoriadis & Kalin, 2002) y los núcleos del rafe (Dinan, 1996).

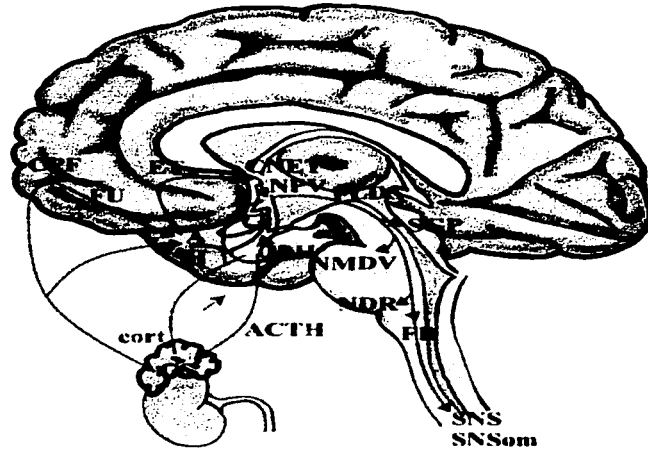


Figura 1. Circuitos nerviosos implicados en la respuesta del organismo al estrés. ET: estria terminal, CNET: cama nuclear de la estria terminal, FU: fascículo uncinado, FLDS: fascículo longitudinal dorsal de Shütz, FR: formación reticular, NMDV: núcleo motor dorsal del vago, NDR: núcleo dorsal del rafe, SGP: sustancia gris periacueductal, SNS, sistema nervioso simpático, SNSom: sistema nervioso somático. Para el resto de las abreviaturas ver el texto.

El núcleo paraventricular del hipotálamo, específicamente sus regiones lateral y medial, controla parcialmente la actividad de los otros efectores de la respuesta al estrés: el sistema nervioso autónomo y el sistema nervioso somático (Cullinan, et al., 1995) (Figura 1). El núcleo paraventricular hipotalámico envía proyecciones, mediante el haz longitudinal dorsal de Schütz, a neuronas motoras parasimpáticas del núcleo motor dorsal del vago (para las modificaciones cardiovasculares presentes durante la exposición a estrés), al núcleo dorsal de la calota (tegmental dorsal) en la sustancia gris periacueductal y a neuronas de la formación reticular del bulbo, de la que salen proyecciones a las neuronas simpáticas preganglionares, en el núcleo intermediolateral de la médula espinal, y a las motoneuronas del asta ventral de la médula espinal (Truex, Carpenter & Mosovich, 1971).

Características conductuales

Cannon (1929) realizó la primera descripción conductual de la respuesta del organismo al estrés con el nombre de respuesta de pelear o huir. Según Cannon, el organismo ante cualquier perturbación de la homeostasis responde con liberación de adrenalina y noradrenalina, hormonas que activan los componentes inespecíficos e inmediatos de la respuesta al estrés. Tales componentes incluyen cambios en el tono cardiovascular, en la tasa respiratoria y en el flujo sanguíneo a los músculos que, finalmente, permiten al organismo emitir una de dos respuestas: permanecer y hacer frente a la situación de estrés (pelear) o escapar de la situación (huir) (Cannon, 1929, 1932/1941).

Posteriormente numerosos investigadores describieron otros patrones conductuales característicos de la respuesta del organismo al estrés, como cambios en la ejecución de los sujetos experimentales en tareas de aprendizaje y de discriminación de

estímulos. En ambos rubros se observó que los sujetos presentaron mejoría transitoria durante la fase aguda del estrés, seguida de ejecución pobre en condiciones de estrés crónico (de Kloet, Oitzl & Jöels, 1999; Nelson, 2000; Sapolsky, 1998; Chrousos, 1998).

Inmediatamente después de exponer a los sujetos experimentales a estimulación aversiva (e.g. descargas eléctricas) o a sus estímulos condicionados ocurrió disrupción del flujo conductual (supresión condicionada), por ejemplo se encontraron decrementos en la tasa de emisión de presiones a una palanca en cajas de Skinner (Estes & Skinner, 1941; Snapper, Shimoff & Schoenfeld, 1969; Sidman, 1960; Willner, 1993), en la velocidad de carrera en laberintos (Wilner, 1993) y en la tasa de emisión de respuestas consumatorias, como la ingesta de alimentos (Paré, 1964). De igual forma, en paradigmas de aproximación/evitación, en los que primero se refuerza una respuesta específica y después se refuerza y castiga la emisión de la misma, se encontró que después de varias sesiones los animales redujeron su tasa de respuesta drásticamente hasta tasas inferiores a la tasa incondicionada de emisión de una respuesta o nivel operante (supresión condicionada) (Snapper, Schoenfeld & Locke, 1966).

La respuesta conductual de los organismos al estrés también incluye incremento en la vigilancia y en la atención selectiva, euforia o disforia, disminución de la percepción del dolor (analgesia) (Chrousos, 1998), incremento en la defecación, emisión de conductas dañinas para la salud, como comer en exceso, abuso de alcohol, tabaco y drogas psicotrópicas (McEwen, 2000a). Asimismo, subsecuente a estrés intenso los sujetos experimentales disminuyen su actividad general durante largos períodos (Anisman & Zacharko, 1982; Glazer & Weiss, 1976; Sidman, 1960) o por el contrario, tienen actividad locomotora agitada, intensa y sin ninguna utilidad aparente para la supervivencia (Sidman, 1960).

La respuesta conductual de los organismos al estrés se ha estudiado ampliamente mediante modelos de nado forzado, con los cuales se obtuvieron resultados contradictorios de los efectos del estrés sobre la conducta de nado de los sujetos experimentales. Por un lado, se observó que ratones adultos sujetos a descargas eléctricas incontrolables de manera aguda o crónica, incrementaron el tiempo de inmovilidad en condiciones de nado forzado en agua a una temperatura de 25°C, 24 hrs. después de la exposición a la descarga (Prince & Anisman, 1984).

Por el contrario, en otros experimentos se encontró que la respuesta al estrés implicó decremento en el tiempo de inmovilidad, o bien, aumento en la magnitud de la actividad de los sujetos en situación de nado forzado. Un primer ejemplo de esta clase de experimentos lo constituye un trabajo que realizó Hodgson (1984) en el que se empleó la privación crónica de la fase de sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) como un modelo animal de estrés, los resultados mostraron que los sujetos experimentales tuvieron decremento en el tiempo de inmovilidad en condiciones de nado forzado en agua a una temperatura de 25°C (Hodgson, 1984). En otro experimento, de Pablo, Parra, Segovia y Guillamón (1989) manipularon las condiciones de estrés durante el nado forzado mediante el cambio en la profundidad de la tina de nado, usaron dos grupos de ratas, uno nadó en agua a una profundidad de 15 cm en la primera sesión y de 35 cm en la segunda sesión y otro grupo nadó primero en agua con un nivel de 15 cm y en la segunda sesión a una profundidad de 35 cm. Estos investigadores encontraron que las ratas sujetas a las condiciones de estrés más intenso (nado a mayor profundidad, 35 cm) durante la primera exposición al nado presentaron mayor movilidad durante la segunda exposición (24 hrs. después, nado a menor profundidad: 15 cm) que las ratas que estuvieron sujetas a menor nivel de estrés (nado en 15 cm), esto en agua a una

temperatura de 25°C (de Pablo, Parra, Segovia & Guillamón, 1989). Finalmente, Bruner y Vargas (1994) manipularon la intensidad del estrés mediante cambios en la temperatura del agua (14, 17, 20, 23, 29, 32, 35, 38, 41 y 47°C) en ratas sujetas a nado forzado durante dos sesiones de 20 min. Bruner y Vargas usaron como variable dependiente la tasa de actividad de los sujetos experimentales. Estos investigadores encontraron que la tasa de actividad de los sujetos en condiciones de nado forzado aumentó sistemáticamente conforme la temperatura del agua se hizo extrema. Las ratas que nadaron en agua a bajas o altas temperaturas tuvieron una tasa de actividad mayor (estrés más intenso) que las ratas que nadaron en agua a 23°C (Bruner & Vargas, 1994). Así, con base en los experimentos de Bruner y Vargas (1994), de Pablo et al. (1989) y Hodgson (1984), en este trabajo se consideró como norma que la respuesta conductual al estrés en condiciones de nado forzado se caracteriza por incremento en la movilidad de los sujetos experimentales.

Manipulaciones ambientales del estrés

Dada la definición de estrés que se adoptó en este trabajo, estrés como la relación funcional entre la respuesta del organismo (fisiológica y conductual) y los estímulos aversivos que la anteceden, en el presente apartado se nombran y describen algunas de las manipulaciones ambientales de estrés. Estas manipulaciones implican someter a los animales experimentales, generalmente roedores, a condiciones de estimulación aversiva como: inmovilización en tubos transparentes, suspensión 10 a 15 cm por arriba del nivel del suelo, administración de descargas eléctricas fuera del control del animal, exposición continua a sonidos de más de 90 decibeles, exposición a predadores o, en especies con jerarquía social, a individuos de mayor rango en la jerarquía, ejecución prolongada y forzada de tareas conductuales, hacinamiento o aislamiento continuos, nado forzado en

agua a temperaturas extremas (Ottenweller, 2000) y privación de sueño (Coenen, Luijtelaar, 1985; Brock, et al., 1994).

El nado forzado en agua a temperaturas extremas es un modelo experimental de estrés que comúnmente se usa y que consiste en exponer a los sujetos de 5 a 30 min. diarios a nado (Ottenweller, 2000) en agua con temperaturas que oscilan entre los 14 y 47°C (Bruner & Vargas, 1994). Adicionalmente, se puede manipular la intensidad del estrés mediante variaciones en la duración de la sesión de nado forzado (Ottenweller, 2000) o en la profundidad de la tina de nado (de Pablo, et al., 1989).

Por otro lado, algunos autores consideran (e.g. Coenen, Luijtelaar, 1985; Brock, et al., 1994), al igual que en el presente trabajo, que la privación de sueño, total o selectiva de fases específicas, es un modelo experimental de estrés, puesto que los sujetos privados de sueño presentan hipertrofia de las glándulas suprarrenales e incremento en la liberación de noradrenalina y corticosterona en el torrente sanguíneo (Rechtschaffen, Bergman, Everson, Kushida & Gilliland, 1989; Kushida, Bergman & Rechtschaffen, 1989; Brock, et al., 1994; Bergman, Everson, Kushida, et al., 1989; Landis, Reeder & Tsuji, 1999). Tales componentes de la respuesta al estrés en ratas privadas totalmente de sueño o selectivamente de la fase de sueño de movimientos oculares rápidos aparecen después de fases agudas de privación (72 y 96 hrs.) (Landis, et al., 1999; Brock, et al., 1994) y también en condiciones de privación crónica (Rechtschaffen, et al., 1989).

Consecuencias patológicas del estrés

Estudios epidemiológicos y clínicos en infantes humanos muestran correlaciones positivas significativas entre estrés prenatal y bajo peso al nacer, malformaciones

congénitas, problemas de sueño (Schell, 1981), problemas respiratorios (ej. bronquitis), hiperglicemia, hipertensión arterial, mayor tendencia a padecer enfermedades autoinmunes, retraso generalizado del desarrollo corporal (Stott, 1973; Meier, 1985) y neuromotor y parálisis cerebral (Weinstock, 1997). Tales estudios también encontraron correlaciones positivas entre el estrés prenatal en seres humanos y conductas sociales inapropiadas (Meier, 1985), desórdenes afectivos (Brown, van de Os, Driessens, Hoek & Susser, 2000), deficiencias sensoriales y cognoscitivas (Meier, 1985) y trastornos que tienen como substrato anatómico alteración en la migración neuronal, como el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (McIntosh, Mulkins & Dean, 1995; Stott, 1973; Weinstock, 1997) y la esquizofrenia (Susser & Lin, 1996; Cannon & Murray, 1998).

Efectos del estrés sobre el desarrollo del sistema nervioso

El sistema nervioso ontogénicamente deriva del ectodermo embrionario, la capa más externa del embrión. En la rata, entre los días 10 y 11 de la gestación comienza la neurulación (Uylings, van Eden, Parnavelas & Kalsbeek, 1990) o formación del tubo neural de las crías, que es la primera estructura del sistema nervioso central. La parte rostral del tubo neural da origen a las estructuras nerviosas encefálicas y la parte caudal constituye lo que será la médula espinal de los animales adultos. Desde su formación la parte rostral del tubo neural se divide en tres vesículas cerebrales primarias, denominadas prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo. Para el caso de la rata, entre los días 12 y 13 de la gestación se forman las cinco vesículas cerebrales secundarias (Uylings, et al., 1990), el prosencéfalo se divide en telencéfalo y diencefalo, el mesencéfalo se mantiene indivisible y el rombencéfalo se divide en metencéfalo y

mielencéfalo. Es de las vesículas cerebrales secundarias que surgen las estructuras encefálicas del sistema nervioso central adulto.

La neurogénesis ocurre en las regiones ventriculares del tubo neural, en la capa endimaria, desde donde las neuronas migran a las capas superficiales a través de la glía radial (Marín & Rubenstein, 2003). Las primeras neuronas corticales que se generan en la zona subventricular son las células de Cajal-Retzius, que nacen entre los días 11 y 15 de la gestación en los fetos de rata, con un pico máximo de neurogénesis en el día 13 de la gestación (Uylings, et al., 1990). Ese mismo día, 13 de la gestación, ya hay neuronas de Cajal-Retzius en la corteza cerebral del lóbulo occipital del feto de rata (Raedler & Sievers, 1976). Recientemente, Sanes, Reh y Harris (2000) mostraron que las primeras células corticales post-mitóticas en el cerebro de la rata aparecieron en la sustancia blanca subcortical alrededor del día 11 de la gestación y para el caso del cerebelo, Jacobson (1991) encontró que la neurogénesis de las células de Purkinje ocurrió entre los días 14 y 17 del período de gestación de las ratas.

La neocorteza de la rata adulta contiene aproximadamente 34 millones de neuronas, las cuales se generan principalmente durante los últimos 10 días de la gestación (Uylings, et al., 1990) y los primeros 15 días de vida postnatal. Es durante ese período postnatal que nacen la mayoría de las neuronas granulares en el sistema nervioso. En la rata la neurogénesis se prolonga hasta la vida adulta del animal en el giro dentado y en el bulbo olfativo (Altman & Das, 1965).

El período postnatal es también una fase crítica para la sinaptogénesis o formación de sinapsis. Durante la vida postnatal es indispensable la actividad sináptica, pues de no presentarse las neuronas inactivas se eliminan mediante los mecanismos de muerte celular programada o apoptosis neuronal (Rakic, 1985). El incremento máximo

en la formación de sinapsis en la isocorteza de la rata ocurre entre los días 12 y 20 de la vida postnatal (Eayrs & Goodhead, 1959), durante el mismo período, en la corteza cerebelosa, las neuronas de Purkinje establecen la mayoría de sus sinapsis, esto es durante los primeros 21 días de vida postnatal (Jacobson, 1991).

Estrés prenatal

Todos los procedimientos de estrés prenatal implican someter a los sujetos experimentales a estrés *in utero*. Las investigaciones que se reportan en este apartado, así como los experimentos realizados en este estudio, se basan en el supuesto que los eventos ambientales que modifican la conducta y fisiología de una hembra gestante, también alteran el medio circundante de los embriones y de esa forma se modifican la fisiología y conducta de las crías (Thompson, 1957; Archer & Blackman, 1970). Las manipulaciones ambientales de estrés prenatal incluyen exponer a las ratas gestantes a condiciones de estimulación aversivas, como las descritas anteriormente (Granados, Martínez, Sicilia, Valenzuela & Pérez-Torrero, 1997; Granados, et al., 1998; Lemaire, Koehl, Le Moal & Abrous, 2000) o bien, al tratamiento de las hembras gestantes con dosis altas de glucocorticoides (Ahlbom, Gogvadze, Chen, Celsi & Ceccatelli, 2000).

Se ha observado que el estrés prenatal altera el desarrollo de todos los órganos del cuerpo. En un experimento en el que se inmovilizaron a ratones gestantes durante 12 hrs. en el día 8 de la gestación, parte del período de mayor organogénesis, se encontró que los fetos de 17 días de gestación presentaron costillas supernumerarias o fusionadas, anomalías vertebrales y encefalocele (un trastorno en el cierre del tubo neural) (Chernoff, Miller, Rosen & Mattscheck, 1988). La inmovilización de las hembras gestantes durante ese período también produjo disminución en el peso corporal en las

crías lactantes con respecto a las crías control, cuya madre estuvo libre de manipulación durante la gestación (Peters, 1982).

En estudios que realizaron Granados et al. (1997, 1998) y Sicilia, Granados y Valenzuela (1994), se inmovilizó a ratas preñadas durante intervalos variables de 2 a 6 horas diarias a lo largo de toda la gestación y se encontró que las crías sujetas a estrés prenatal presentaron decremento en el número de arborizaciones y espinas dendríticas en las neuronas piramidales de la corteza visual (Granados, et al., 1997, 1998) y retraso en el crecimiento dendrítico de las neuronas piramidales de la corteza motora en el día 21 de vida postnatal, en comparación con el grupo control (Sicilia, et al., 1994). Tales decrementos se observaron principalmente en las dendritas proximales al soma neuronal. Con los hallazgos de decremento en arborizaciones y espinas dendríticas, Granados et al. (1998) concluyeron que el estrés prenatal retardó el patrón de maduración dendrítico y por tanto el establecimiento de sinapsis y la completa funcionalidad neuronal.

En otro experimento, Lemaire et al. (2000) averiguaron los efectos del estrés prenatal sobre la neurogénesis. Estos investigadores inmovilizaron ratas preñadas durante 45 minutos diarios y al mismo tiempo las expusieron a luz brillante desde el día 15 hasta el día 21 de la gestación. Encontraron que las crías de las ratas sujetas a estrés presentaron decremento del 45% en la proliferación de células granulares en el giro dentado a los 28 días, 3, 10 y 22 meses de edad con respecto al grupo control. Las crías, mostraron también un decremento progresivo en el número total de neuronas granulares en el giro dentado a partir de los 3 meses de edad y nula neurogénesis subsecuente a la ejecución de tareas de aprendizaje de lugar (Lemaire, et al., 2000).

Estrés postnatal

El estudio de los efectos del estrés postnatal sobre el desarrollo del sistema nervioso central se puede llevar a cabo siguiendo una de dos estrategias: someter a las crías a condiciones de estrés durante las dos primeras semanas de vida o administrar, vía inyección (Bohn, 1984) u oralmente (a través de la leche materna) (Catalani, et al., 1993; Meerlo, Horvath, Luiten, Angelucci, Catalani & Koolhaas, 2001), dosis altas de glucocorticoides o de factor liberador de corticotrofina (Brunson, Eghbal-Ahmadi, Bender, Chen & Baram, 2001).

En la rata la inyección de dosis altas de glucocorticoides durante la primera semana de vida postnatal disminuyó la tasa de proliferación neuronal y glial, alteró los períodos de nacimiento neuronal y causó el cese precoz de la división de algunas células madre. En los neuroblastos cuya división cesó, la dexametasona retardó la formación de espinas dendríticas, la mielinización y crecimiento axónico y la sinaptogénesis en el hipocampo y cerebelo (Bohn, 1984). A nivel macrocelular se encontraron malformaciones graves en los lóbulos cerebelosos (Bohn, 1984) y reducción en el tamaño cerebral de ratas adultas que recibieron neonatalmente inyecciones de glucocorticoides (de Kloet, Rosenfeld, Van Eekelen, Sutanto & Levine, 1988). Finalmente, Bohn (1984) encontró que el tratamiento con dexametasona durante la última parte del período neonatal tuvo efectos permanentes sobre la neurogénesis y la gliogénesis, mientras que los efectos del tratamiento durante fases más tempranas se compensaron por la subsecuente mitosis celular de las células madre. Por el contrario, los efectos sobre el peso y tamaño del cerebelo (reducciones) permanecieron durante toda la vida del animal sin importar el inicio o término del tratamiento (Bohn, 1984).

En otro estudio, Brunson et al. (2001) administraron cuatro inyecciones de hormona liberadora de corticotrofina (0.75 nmol, cada una) en el ventrículo lateral de ratas entre los días postnatales 11 y 12, con la finalidad de evaluar los efectos de la hormona liberadora de corticotrofina (CRH) sobre las neuronas piramidales hipocámpicas. El tratamiento postnatal agudo con CRH redujo el número total de neuronas piramidales en el sector CA3 del hipocampo a los 8 y 10 meses de edad, independientemente de la tasa de neurogénesis o de las proyecciones de las neuronas granulares del giro dentado.

Finalmente, se observó que inyecciones subcutáneas de corticosterona (5 mg/kg de peso corporal) a crías de rata en los días postnatales 2-6, aumentó la densidad de células en degeneración (Gould, Woolley & McEwen, 1991) y de células recién nacidas (Gould, Wooley, Cameron, Daniels & McEwen, 1991) en el hilio del giro dentado en el día postnatal 6. El hilio es la zona donde ocurre la neurogénesis en el giro dentado. El mismo tratamiento postnatal con corticosterona disminuyó la densidad de células picnóticas y células recién nacidas en las hojas infra y supra-piramidales del giro dentado también en el día postnatal 6 (Gould, Woolley & McEwen, 1991; Gould, Woolley, Cameron, et al., 1991). Gould, Woolley y McEwen (1991) sugieren que los efectos diferenciales de la corticosterona sobre el hilio y las hojas infra y supra-piramidales del giro dentado durante la primera semana postnatal, se debieron a que probablemente los glucocorticoides alteraron la migración neuronal normal de las neuronas granulares desde el hilio hasta su posición final en el giro dentado.

Estrés prenatal o postnatal y aprendizaje

Los efectos del estrés sobre el aprendizaje de los sujetos experimentales se han estudiado principalmente mediante el registro de la ejecución en pruebas de aprendizaje de lugar como el laberinto de agua de Morris. El laberinto de Morris consiste en una tina circular dividida en cuadrantes, llena de agua opacada con leche, que tiene una plataforma sumergida 1 ó 2 cm en la que el sujeto experimental puede subir para escapar del agua. El procedimiento habitual es colocar al sujeto experimental aleatoriamente en alguno de los cuadrantes en los que está dividida la tina y registrar la latencia para encontrar la plataforma. También, por medio de una cámara de video, se registran la trayectoria seguida por la rata y el tiempo que permanece en cada uno de los cuadrantes. En cada ensayo los sujetos tienen 60 seg para encontrar la plataforma, si no lo hacen, se los coloca sobre la plataforma durante 30 seg y termina el ensayo (Morris, 1984).

Lemaire et al. (2000) sometieron a ratas gestantes a luz brillante e inmovilización 45 min. diarios entre los días 15-21 de la gestación y encontraron que las crías de cuatro meses de edad que estuvieron sujetas a estrés prenatal tuvieron una latencia mayor y recorrieron una mayor distancia para encontrar la plataforma en el laberinto de agua de Morris durante los 5 días de entrenamiento en comparación con las ratas del grupo control. El decremento en el aprendizaje de lugar se relacionó con el decremento en la tasa de neurogénesis y número total de neuronas granulares en el giro dentado de las ratas experimentales.

En otro experimento relativo a los efectos del estrés prenatal sobre el aprendizaje, Szuran, Pliska, Pokorny y Welzl (2000) encontraron que inmovilizar a ratas preñadas durante 45 min., tres veces al día, entre los días 15-19 de la gestación, conllevó a que los hijos macho de 12 meses de edad tuvieran una mayor latencia para encontrar la

plataforma del laberinto de agua de Morris en los días que se cambió de posición la plataforma, con respecto a ratas control de la misma edad y a ratas hembras sujetas a estrés prenatal.

Respecto a los efectos del estrés postnatal o la administración neonatal de glucocorticoides o factor liberador de corticotrofina sobre el aprendizaje en ratas, los reportes en la literatura son contradictorios. Por un lado, indican efectos adversos sobre la ejecución de los sujetos, mientras que por el otro reportan mejorías en el aprendizaje de lugar de las ratas. Brunson et al. (2001) encontraron que ratas que recibieron inyecciones intraventriculares de hormona liberadora de corticotrofina (0.75 nmol por día) en los días postnatales 11 y 12, procedimiento que mimetiza al estrés postnatal, tuvieron ejecuciones pobres en el laberinto de agua de Morris, lo que se relacionó con la reducción en el número de neuronas piramidales del sector CA3 del hipocampo. Brunson et al. entrenaron sujetos experimentales y controles de 3, 6 y 10 meses de edad durante dos días consecutivos (10 ensayos por día) en el laberinto de agua de Morris, con la plataforma situada siempre en el mismo lugar. En el tercer día cambiaron la posición de la plataforma (6 ensayos) y registraron la latencia de escape de los sujetos. Las ratas que recibieron las inyecciones de la hormona liberadora de corticotrofina tardaron más tiempo en encontrar la plataforma en el día de prueba que las ratas control (no inyectadas) o las ratas inyectadas solo con el vehículo (Brunson, et al., 2001).

Resultados contrarios a los Brunson et al. (2001) se obtuvieron en un experimento llevado a cabo por Catalani et al. (1993). Estos investigadores administraron oralmente corticosterona a ratas lactantes, las cuales estuvieron expuestas a través de la leche materna a dosis elevadas de corticosterona (1.2µg/100 ml de cort.

libre en plasma, 100% arriba de los niveles basales). Catalani et al. (1993) entrenaron a las crías que recibieron corticosterona y a sus controles en el laberinto de agua de Morris a la edad de 21 días, 1, 2 y 3 meses y encontraron que las crías experimentales aprendieron a localizar la plataforma más rápido que las crías del grupo control en todas las edades probadas.

Estrés prenatal y conducta de nado

Para estudiar los efectos del estrés prenatal sobre la conducta de nado de las ratas se ha empleado de manera general la prueba de nado forzado de Porsolt. La prueba de Porsolt se lleva a cabo en un cilindro de 15 cm de diámetro y 30 cm de altura que se llena con un nivel de agua de 15 cm. La temperatura del agua se mantiene entre 23 y 25°C. En la prueba de Porsolt se somete a las ratas a dos sesiones de nado forzado de 15 y 5 minutos cada una (con un intervalo entre sesiones de 24 hrs.). En el día dos de la prueba de nado de Porsolt se registran la latencia para que las ratas se queden inmóviles después de un período inicial de gran actividad y el tiempo de inmovilidad (Porsolt, Le Pichon & Jalfre, 1977).

En un primer experimento Alonso, Arevalo, Afonso y Rodríguez (1991) emplearon dos modelos experimentales de estrés prenatal: ratas gestantes inmovilizadas en tubos transparentes durante 3 horas diarias y ratas gestantes suspendidas, por medio de un arnés alrededor del tórax, 10 cm por encima del nivel del suelo, también durante 3 horas diarias. Ambos grupos desde el día 15 hasta el 21 de la gestación. Ulteriormente, Alonso et al. (1991) sometieron a las crías de tres y seis meses de edad a la prueba de nado forzado de Porsolt y encontraron que el estrés prenatal, independientemente del

modelo experimental empleado, aumentó el tiempo de inmovilidad de las crías hembra en el segundo día de la prueba con respecto al grupo control en las dos edades probadas.

Posteriormente, Alonso, Navarro, Santana y Rodríguez (1997) emplearon como único modelo experimental de estrés el de las ratas gestantes suspendidas en un arnés 10 cm por encima del nivel del suelo, durante 3 horas diarias, entre los días 15 y 21 de la gestación. A los tres meses de edad las crías de esas ratas se probaron en nado forzado y se confirmó que el estrés prenatal incrementó el tiempo de inmovilidad en el segundo día de nado con respecto al grupo control, con efectos significativos solamente en las hembras (Alonso, et al., 1997). En un estudio similar Drago, Di Leo y Giardina (1999) también obtuvieron efectos significativos del estrés prenatal sobre la conducta de nado de ratas macho de tres meses de edad, encontraron que el estrés prenatal incrementó el tiempo de inmovilidad en el segundo día de la prueba de Porsolt.

Propósito del estudio

En resumen, reportes en la literatura indican que el estrés prenatal o postnatal tuvo efectos nocivos sobre algunos parámetros del desarrollo del sistema nervioso (e.g. neurogénesis, sinaptogénesis y mielinización). También se describió que los glucocorticoides probablemente afectaron la migración neuronal normal en ratas de 6 días de nacidas, Gould, Woolley y McEwen (1991) encontraron un gran número de neuronas recién nacidas y muertas en el hilio y pocas neuronas recién nacidas y muertas en sus posiciones finales en el giro dentado, lo que interpretaron como una posible alteración en la migración neuronal. Adicionalmente, en seres humanos el estrés prenatal correlacionó con aumento en la incidencia de algunos trastornos neuropsiquiátricos que tienen como substrato anatómico alteraciones de la migración neuronal, como la

esquizofrenia o el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (Cannon & Murray, 1998; McIntosh, et al., 1995; Stott, 1973; Susser & Lin, 1996).

Respecto a los efectos del estrés pre o postnatal sobre el aprendizaje de lugar en la rata, se sabe que el estrés prenatal deterioró la ejecución de los animales experimentales en el laberinto de agua de Morris (Lemaire, et al., 2000; Szuran, et al., 2000), mientras que la administración postnatal de las hormonas que se liberan durante el estrés produjo resultados contradictorios, por un lado se encontró que esas hormonas deterioraron la ejecución de los animales en el laberinto de agua de Morris (Brunson, et al., 2001) y por otro que la ejecución en tal laberinto mejoró (Catalani, et al., 1993).

Finalmente, respecto a la conducta de nado se encontró que el estrés prenatal aumentó el tiempo de inmovilidad de los sujetos de tres y seis meses de edad en la prueba de nado forzado de Porsolt en comparación con los controles (Alonso, et al., 1991, 1997; Drago, et al., 1999). Por el contrario, en ratas adultas se ha descrito que el estrés previo o concurrente al nado forzado disminuyó el tiempo de inmovilidad (Hodgson, 1984) o bien aumentó la movilidad (de Pablo, et al., 1989) y la tasa de actividad de los sujetos en condiciones de nado (Bruner & Vargas, 1994).

Así, el presente trabajo tuvo tres propósitos de investigación: A. Investigar los efectos del estrés pre y postnatal sobre la migración neuronal, B. Elucidar el efecto del estrés prenatal o postnatal y la combinación de ambos sobre el aprendizaje de lugar en la rata y C. Clarificar los efectos del estrés prenatal sobre la conducta de nado de la rata.

Método

Sujetos

Se usaron 12 ratas gestantes de la cepa Wistar (200 g. peso corporal) de 9 semanas de edad y sus crías (10 por camada).

Material

Se usaron jaulas habitación jumbo para ratas (50x40x20 cm) de plexiglas opaco y pedestales de cristal en forma de cilindro (7cm de diámetro x 8 cm de altura), también se usó una tina de 80x51x24 cm con termostato (Precision Scientific Group, modelo 186, GCA corporation) y finalmente, para la prueba de aprendizaje de lugar se usó el laberinto de Barnes, que consiste en una plataforma circular de madera (182 cm de diámetro) con 16 agujeros (7 cm de diámetro c/u) separados 25 cm uno de otro, distribuidos a lo largo de su circunferencia, debajo de los cuales se puede colocar un cajón-meta (30x19x18 cm). Sesenta centímetros por encima de la plataforma se colocó un foco de 150 watts (Barnes, 1979). Para el registro del tiempo en todas las pruebas se empleó un cronómetro digital.

Procedimiento

Se asignó al azar a las ratas gestantes a uno de cuatro grupos para la fase de tratamiento prenatal: privación selectiva de sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), nado forzado, privación de sueño MOR-nado forzado y control. Al nacimiento la mitad de las crías de cada camada (5 crías) de todas las ratas madre (experimentales y controles) se asignaron al azar a las condiciones de estrés postnatal (nado forzado), el resto de cada camada (5 crías) constituyó el control para las crías de nadaron. Así, se trabajó con ocho grupos de crías (ver Tabla 1).

Estrés Prenatal-Nado Forzado (n=3)	→	Estrés Postnatal-Nado Forzado (n=15)	→	Entrenamiento en el Lab. de Barnes (n=3)
	→	Sin tratamiento postnatal (n=15)	→	Entrenamiento en el Lab. de Barnes (n=3)
Estrés Prenatal-Privación Sueño MOR (n=3)	→	Estrés Postnatal-Nado Forzado (n=15)	→	Entrenamiento en el Lab. de Barnes (n=3)
	→	Sin tratamiento postnatal (n=15)	→	Entrenamiento en el Lab. de Barnes (n=3)
Estrés Prenatal-Nado + Privación de Sueño MOR (n=3)	→	Estrés Postnatal-Nado Forzado (n=15)	↘	Entrenamiento en el laberinto de Barnes y estudio histológico del sistema nervioso
	→	Sin tratamiento postnatal (n=15)	↗	
Control (n=3)	→	Estrés Postnatal-Nado Forzado (n=15)	→	Entrenamiento en el Lab. de Barnes (n=3)
	→	Control (n=15) (Histología del Sist. Nerv.)	→	Entrenamiento en el Lab. de Barnes (n=3)

Tabla 1. Diseño experimental del presente trabajo.

Adaptación a las condiciones experimentales

Previo a la ejecución del experimento se sometió a las ratas de todos los grupos a 10 días de adaptación a las condiciones experimentales durante 5 min. diariamente. Las ratas de la condición privación de sueño MOR se colocaron en las cajas jumbo sobre el pedestal con agua y comida a su alcance en los primeros cinco días. Los últimos cinco días de adaptación cada rata de este grupo estuvo cinco minutos en la jaula jumbo bajo las mismas condiciones que los días anteriores, pero ahora se añadió agua (nivel de 1-2 cm por debajo de la parte alta del pedestal).

Para el grupo de nado forzado se expuso a cada rata a cinco minutos en la tina de nado sin agua los primeros cinco días y con agua los últimos cinco días. El nivel del agua fue de 15 cm con una temperatura de 23° C, que se sabe es una temperatura neutra que no es estrés para la rata (Bruner & Vargas, 1994). Se adaptó a los sujetos del grupo privación de sueño MOR-nado a las dos condiciones experimentales y a las ratas control sólo a las condiciones de nado forzado. A partir del inicio de la fase de adaptación se registró diariamente el peso corporal de todos los sujetos experimentales. Después del período de adaptación se colocó a tres ratas hembra con un macho durante cinco días. Se cronometró la gestación de cada sujeto, se contó como día 0 de la gestación el día en que se encontró el tapón vaginal postcópula.

Estrés Prenatal

Privación Selectiva de sueño MOR. Se usó la técnica de la plataforma en la piscina (Morden, Mitchell & Dement, 1967) que consiste en colocar al sujeto experimental en un pedestal de pequeño diámetro rodeado por agua a un nivel de 1 a 2 cm abajo de la parte superior del pedestal. En esta técnica el pedestal le permite a la rata realizar sus actividades de vigilia y dormir en la fase de sueño de ondas lentas mas no durante la fase de sueño MOR. Durante el sueño MOR la rata, al igual que otros mamíferos, pierde el tono muscular y por lo tanto cae de la plataforma, lo que la despierta. Después de aproximadamente tres días de privación de sueño MOR los sujetos experimentales dejan de caer de la plataforma y despiertan justo en el momento en que entran en la fase de sueño MOR, es así que la técnica confiablemente priva de manera selectiva la fase de sueño MOR a los sujetos experimentales.

Tres ratas gestantes estuvieron sujetas a privación de sueño MOR desde el día 10 hasta el día 20 de la gestación. Se implementaron dos períodos de privación, el primero

de 96 horas y el segundo de 72 horas, con un intervalo de no-privación de 72 horas. El tiempo de privación de sueño que se usó en este trabajo se eligió con base en trabajos previos en los que se encontró que después 72 y 96 hrs. de privación de MOR se presentaron algunos de los parámetros de la respuesta al estrés en los sujetos experimentales (Brock, et al., 1994; Landis, et al., 1999). Durante los períodos de privación de MOR las ratas tuvieron agua y comida *ad libitum* al alcance del pedestal. Se registró el peso corporal de los sujetos diariamente desde el día 10 hasta el 20 de la gestación.

Nado forzado. Se sometió a 3 ratas gestantes a 20 minutos diarios de nado en agua a una temperatura de 32°C desde el día 10 hasta el 20 de la gestación. De los estudios previos de estrés en condiciones de nado forzado se sabe que el nado en agua a temperaturas extremas, como 32°C, aumenta la intensidad del estrés en comparación con nado en agua a temperaturas "neutras" (aproximadamente 23°C) (Bruner & Vargas, 1994), por lo que en el presente trabajo se usó agua a una temperatura de 32°C como una manipulación de estrés. Al igual que el grupo anterior, se registró el peso de los sujetos experimentales desde el día 10 hasta el 20 de la gestación.

Se sometió a los sujetos del grupo privación de sueño MOR-nado forzado (n=3) a dos períodos de privación de sueño de 96 y 48 hrs. del día 10 al 19 de la gestación, con un período intermedio de no privación de 72 hrs. En los días 19 y 20 de la gestación las ratas de ese grupo estuvieron sujetas a 10 minutos de nado forzado. Al igual que en los grupos experimentales anteriores se registró el peso de los sujetos desde el día 10 hasta el 20 de la gestación.

Las ratas del grupo control permanecieron en sus jaulas habitación, libres de toda manipulación de estrés, únicamente se las trasladó al lugar de experimentación para el registro diario del peso corporal desde el día 10 hasta el 20 de la gestación.

Estrés postnatal

Nado forzado. La fase de estrés postnatal se llevó a cabo entre los días 2 y 19 de la vida postnatal de las crías. Se sometió a la mitad de cada camada (n=5, total de crías=60) de todos los grupos de la fase prenatal (experimentales y controles) a nado forzado. El agua en que nadaron las crías estuvo a una temperatura de 32°C y se mantuvo con un nivel de 15 cm. La duración de cada sesión incrementó progresivamente conforme aumentó la edad de las crías: en los primeros cinco días de nado (días postnatales 2-6) fue menos de 1 minuto, en el día postnatal 9 fue de cinco minutos o más, 15 minutos o más en el día 13 de la vida postnatal y 20 minutos en los días postnatales 15-19. El tiempo máximo de duración de cada sesión fue 20 minutos. Desde el día 2 hasta el 19 de la vida postnatal se separó a todas las crías de su madre durante aproximadamente 100 minutos, que fue el tiempo que constituyó la suma de las duraciones de sesión de los cinco sujetos que nadaron de cada camada.

Desde el día 2 hasta el día 15 de la vida postnatal se tuvo la precaución de rescatar oportunamente a las crías para evitar que se pudieran ahogar, el rescate de las crías marcó el término de una sesión. Se rescató a las crías de acuerdo con criterios conductuales previamente reportados en la literatura, como el bucear y nadar de forma agitada y desorganizada (Binik, Theriault & Shustack, 1977; Bruner & Vargas, 1994). Adicionalmente, se usaron criterios de rescate derivados de la observación conductual de crías en condiciones de nado en un experimento anterior realizado en este laboratorio. Así, durante los primeros cinco días de nado se rescató a las crías que tendían a

hundirse, en los días subsiguientes el rescate se realizó en las ratas que abrieron el hocico e ingirieron agua durante el nado o en las crías que aumentaron drásticamente el número de cruces por minuto y después lo redujeron a un cruce por minuto o menos.

Se registró la tasa de actividad por minuto de cada sujeto durante todas las sesiones de nado de acuerdo al procedimiento de Bruner y Vargas (1992), que consiste en dividir la tina de nado en cuadrantes y contar el número de cruces que cada sujeto hace de una zona a otra durante un minuto, con base en lo cual se calcula la tasa de actividad. También se registró la duración de la sesión para cada sujeto experimental, dadas las variaciones en el tiempo de nado conforme aumentó la edad de las crías. Al final de cada sesión de nado se secó a las crías con una toalla de tela durante 1 a 2 minutos.

Las crías cuya madre estuvo sujeta a privación de sueño MOR-nado forzado durante la gestación únicamente nadaron 10 minutos diarios en agua a 29°C los mismos días de vida postnatal que las crías de los otros grupos.

Aprendizaje de Lugar

Entrenamiento en el laberinto de Barnes. El laberinto de Barnes sirve para evaluar aprendizaje de lugar en roedores. En el laberinto se refuerza de manera negativa, mediante el escape de una luz intensa, la disminución en la latencia para encontrar un sitio de resguardo oscuro (el cajón-meta) y la disminución en el número de errores cometidos (agujeros visitados antes del correcto). El objetivo del entrenamiento en el laberinto es lograr que los sujetos aprendan la posición del cajón-meta.

El entrenamiento en el laberinto de Barnes comenzó en el día 20 y terminó en el día 29 de la vida postnatal de las crías (se destetó a las crías en el día postnatal 22). Se entrenaron tres crías de cada condición experimental y tres crías control (total de

sujetos=24) (ver Tabla 1), cada uno de los grupos de sujetos que se entrenaron en el laberinto se formó con crías de diferentes camadas.

Durante los días postnatales 20 y 21 se expuso a todos los sujetos que se entrenaron en el laberinto de Barnes a dos sesiones de adaptación a las condiciones del entrenamiento, las sesiones de adaptación consistieron en colocar a cada sujeto en el cajón-meta con el foco y un ventilador (ruido blanco) encendidos. En el primer día cada rata tuvo tres períodos de adaptación, dos de 15 minutos y uno más de 4 minutos de duración, separados entre sí por al menos 30 minutos de descanso. Un minuto después del último período de adaptación (4 minutos) comenzó el primer ensayo. En el segundo día de entrenamiento se sometió a las ratas a dos períodos de adaptación (de 15 minutos c/u) con un intervalo entre períodos de al menos 30 minutos y nuevamente, un minuto después del último período de adaptación comenzó el primer ensayo del segundo día.

Para cada rata se realizaron 30 ensayos en 10 sesiones consecutivas, tres ensayos por sesión. En cada ensayo se colocó a la rata en el centro de la plataforma siempre en la misma posición, cada ensayo tuvo como duración máxima 4 minutos, si la rata no encontró el cajón-meta antes que terminará ese período se la colocó manualmente en el cajón. Independientemente de si encontraron o no el cajón-meta, las ratas permanecieron en el cajón durante 1 minuto y después se las devolvió a su jaula con el resto de las crías. El intervalo entre ensayos fue de 1 minuto, durante ese tiempo se limpió el laberinto para evitar rastros de olor y que de esa forma los sujetos encontraran el cajón-meta siguiendo la trayectoria del ensayo anterior.

El cajón-meta permaneció en la misma posición desde el ensayo 1 hasta el 11, en el ensayo 12 se cambió la posición del cajón a un agujero localizado 135° de la posición original en el sentido de las manecillas del reloj (posición 2), de acuerdo a

recomendaciones hechas por Barnes (1979). El cajón-meta permaneció en la posición 2 desde el ensayo 12 hasta el 20. En el ensayo 21 se movió nuevamente la posición del cajón-meta a la primera localización, donde permaneció hasta el último ensayo (ensayo 30).

El registro en el laberinto de Barnes incluyó las siguientes variables: latencia para encontrar el cajón-meta, número de errores cometidos antes de encontrar el cajón-meta (agujeros visitados incorrectos, criterio: flexión de la cabeza en el agujero) y número de cruces por el centro de la plataforma (criterio: pasar más de dos agujeros sin visitarlos) de cada sujeto experimental. Adicionalmente se registraron la frecuencia de otras conductas diferentes de correr, como acicalarse o rascarse, el tiempo de inmovilidad y el número de heces fecales o gotas de orina que cada rata hizo durante el ensayo.

Sistema Nervioso

Las muestras de tejido nervioso se obtuvieron de crías de 45 días de edad que estuvieron sometidas a estrés prenatal y pre-postnatal. Las crías pertenecían a las camadas de las ratas madre que estuvieron sujetas a privación de sueño MOR y nado forzado durante la gestación. En el día postnatal 45, previa anestesia con pentobarbital sódico (0.4 ml/kpc), se perfundió a las crías vía cardíaca con solución salina al 0.9% y formol al 10%. Se extrajeron los cerebros y se completó la fijación por inmersión en formol al 10%. Posteriormente se llevaron a cabo los procedimientos necesarios para preparar los tejidos nerviosos para la realización de las técnicas histológicas: versión rápida de la técnica de Golgi y técnica de Klüver-Barrera para mielina (Klüver & Barrera, 1953).

Resultados

Peso Corporal

Clásicamente en el estudio de los efectos del estrés sobre la fisiología y conducta del organismo, particularmente de los efectos del estrés pre o postnatal, se han reportado cambios en el peso corporal de los sujetos subsecuente a la exposición a estrés (e.g. Selye, 1956; Sicilia, et al., 1994; Dahlof, Hard & Larsson, 1978), por lo que en este trabajo se registró el peso corporal de las crías experimentales y controles en los días 2 a 20 de la vida postnatal. En la evaluación de los efectos del estrés pre y/o postnatal sobre el peso corporal se incluyeron los grupos estrés prenatal-privación MOR y su combinación con estrés postnatal, estrés prenatal-nado y su combinación con estrés postnatal y estrés postnatal solo, todos se compararon con las crías control. Con la prueba de análisis de varianza multivía para medidas repetidas (Huynh-Feldt) se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el peso corporal de las crías de los grupos experimentales estrés prenatal y estrés pre-postnatal en comparación con el grupo control desde el día postnatal 6 hasta el día postnatal 20 ($F_{2,267-11.335}=4.273$, $p<0.05$). Como se aprecia en la Figura 2, las crías que estuvieron sujetas a estrés prenatal y a estrés pre y postnatal pesaron más que las crías control o las crías del grupo estrés postnatal. En promedio las crías que se sometieron a estrés prenatal y a estrés pre y postnatal pesaron 2.37 g. más que las crías control en los días que se mencionaron antes. Por otro lado, no se encontraron diferencias en el peso corporal de las crías sujetas a estrés postnatal y las crías control, ni entre los grupos estrés prenatal y estrés pre y postnatal.

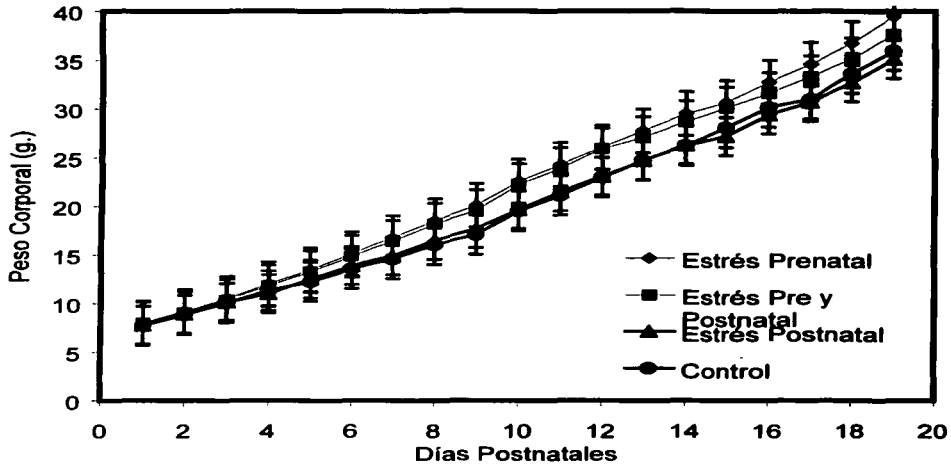


Figura 2. Promedio del peso corporal de las crías de los grupos experimentales y control desde el día postnatal 2 hasta el día postnatal 20. En la gráfica aparecen los errores típicos.

Edad de apertura de los ojos

En la rata, así como en otros animales que nacen con los ojos cerrados, la edad de apertura de los ojos es un indicador de la maduración de las crías. En este trabajo se registró la edad de apertura de los ojos con la finalidad de conocer los efectos del estrés prenatal y/o postnatal sobre el desarrollo físico de los sujetos. Con la prueba de Kruskal-Wallis se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=37.149$, $df=5$, $p<0.001$) en la edad de apertura de los ojos de las crías que se sometieron a estrés con respecto al grupo control. Como se aprecia en la Tabla 2, las crías de los grupos estrés

prenatal y estrés pre-postnatal abrieron los ojos un día antes que las crías del grupo control y del grupo de estrés postnatal.

	Media	Desviación estándar
Estrés Prenatal	13.70	+/- 0.85
Estrés Pre y Postnatal	13.75	+/- 0.60
Estrés Postnatal	14.92	+/- 0.49
Control	14.83	+/- 0.57

Tabla 2. Edad de apertura de los ojos de las crías de los grupos estrés prenatal, pre-postnatal, postnatal y control.

Conducta de Nado

Con la finalidad de esclarecer los efectos del estrés prenatal sobre la conducta de nado en la rata se registraron la duración de la sesión de nado, el número de cruces que cada cría hizo de una zona a otra de la tina durante toda la sesión y la tasa de actividad por minuto de cada cría en condiciones de nado. A pesar que la mitad de las crías de todas las camadas de todos los grupos experimentales nadaron, en este apartado solo se reportan los datos de los grupos: estrés prenatal-privación de sueño MOR, estrés prenatal-nado forzado y control. Como se recordará, las crías del grupo de estrés prenatal en que se combinó la privación selectiva del sueño MOR con el nado forzado nadaron solo 10 minutos, por lo que su tiempo de nado y el total de cruces durante toda la sesión no son comparables con los de los otros grupos.

La prueba de análisis de varianza multivía para medidas repetidas (Huynh-Feldt) reveló diferencias significativas en el tiempo que las crías permanecieron nadando desde el día postnatal 5 hasta el día postnatal 14 ($F_{2,295-4.591}=15.652, p<0.05$). Después del día

14 de la vida postnatal no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la duración de la sesión porque a esa edad las crías de todos los grupos alcanzaron la duración máxima de la sesión de nado forzado (20 min.). Se obtuvo el promedio de las diferencias en el tiempo de nado entre los grupos de estrés prenatal y el grupo sin anipulación prenatal en los días postnatales 5 a 14 y se encontró, como se muestra en la Figura 3, que las crías que estuvieron sujetas a estrés prenatal nadaron 2.6 minutos más que las crías no sujetas a estrés durante la gestación.

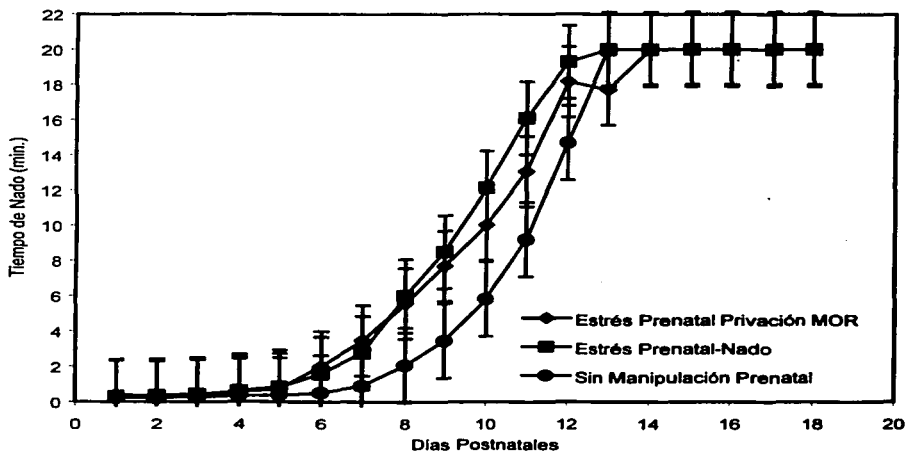


Figura 3. Promedio de duración de la sesión para cada grupo en situación de nado forzado en agua a 32°C. En la gráfica aparecen los errores típicos.

En cuanto al total de cruces de una zona a otra en la tina de nado, el análisis estadístico con la prueba de análisis de varianza multivía para medidas repetidas (Huynh-Feldt) reveló diferencias significativas entre los grupos de estrés prenatal y el grupo cuya madre no estuvo expuesta a estrés durante la gestación en los días postnatal 2 al 19 ($F_{8,072-16,145}=6.042$, $p<0.05$). Como se observa en la Figura 4, las crías a cuya madre se privó de sueño MOR durante la gestación cruzaron en promedio 12.24 veces más que las crías sin manipulación prenatal, por otro lado, las crías cuya madre nadó en agua a 32°C durante la gestación cruzaron de una zona a otra 24.33 veces más que las crías que no estuvieron expuestas a estrés prenatal.

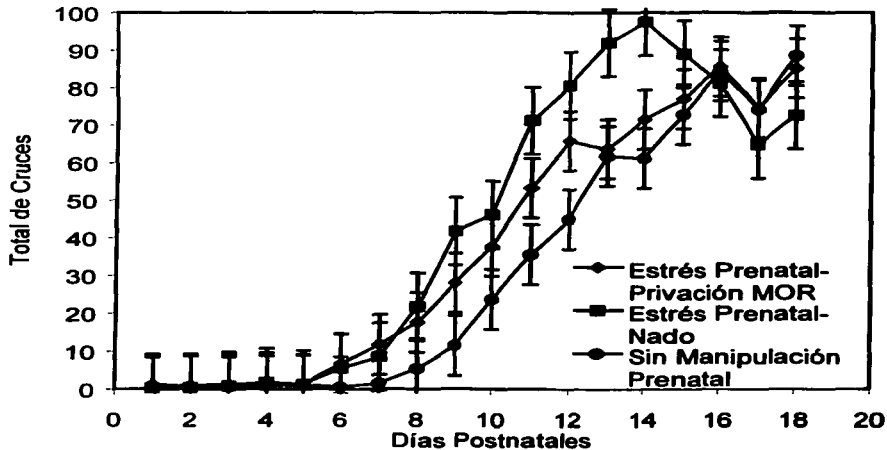


Figura 4. Promedio del total de cruces de una zona a otra de la tina de nado forzado por grupo experimental. En la gráfica aparecen los errores típicos.

Finalmente, se calculó la tasa de actividad por minuto de los sujetos experimentales en condiciones de nado forzado y se comparó contra la tasa de actividad de las crías que no estuvieron sujetas a estrés durante la gestación. En general, las crías de todas las condiciones (estrés prenatal-privación de sueño MOR, estrés prenatal-nado y control) tuvieron una tasa de actividad alta en los primeros minutos de la sesión con un decremento progresivo en el número de cruces por minuto hacia el final de la sesión, esto a partir del día 9 de la vida postnatal en las crías experimentales (estrés prenatal) y después del día 11 de la vida postnatal para las crías sin manipulación prenatal. A pesar de las similitudes en la conducta de nado, las crías experimentales (estrés prenatal) siempre mantuvieron una tasa de actividad más alta que las crías sin manipulación prenatal (Figura 5).

Dada la distribución del promedio de la tasa de actividad por grupos en el tiempo (ver figura 5) y la poca variación de una sesión a otra, se agrupó a los datos en bloques de cuatro minutos. La prueba de análisis de varianza de una vía con códigos de contraste reveló diferencias estadísticamente significativas en los primeros bloques de cuatro minutos de los días postnatales 7 al 10, 15, 16 y 19 (para los valores del estadístico F y sus probabilidades asociadas ver tabla 3), en esos días, las crías que estuvieron sujetas a estrés prenatal tuvieron una tasa de actividad mayor que las crías cuya madre permaneció sin manipulación durante la gestación. Por otro lado, en los últimos dos días de las sesiones de nado forzado (días postnatales 18 y 19) se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de actividad de los sujetos en los últimos bloques de cuatro minutos (Tabla 3), las ratas control tuvieron una tasa de actividad mayor que las ratas que estuvieron sujetas a estrés prenatal (Figura 5).

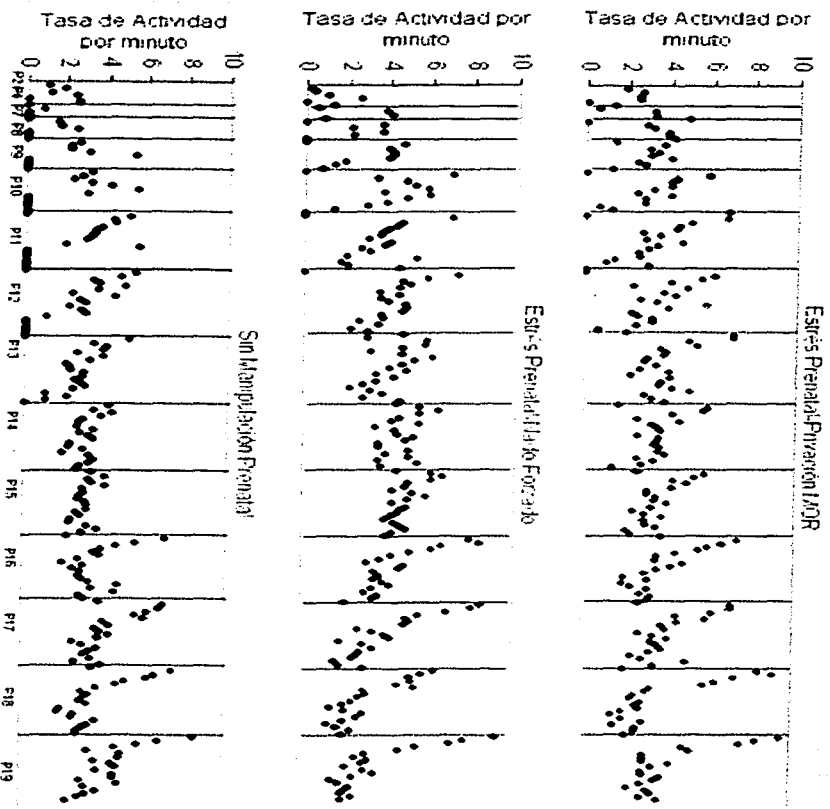


Figura 5. Promedio de tasa de actividad por minuto de los grupos estrés prenatal-privación de sueño MOR, estrés prenatal-nado forzado y control.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Bloques 4 min.	F	df	P
P7-bloque 1	17.937	1-44	0.000
P8-bloque 1	9.350	21-44	0.004
P9-bloque 1	6.238	1.44	0.016
P10-bloque 1	20.084	1-35	0.000
P15-bloque 1	12.501	1-35	0.001
P16-bloque 1	5.237	1-35	0.028
P19-bloque 1	4.352	1-35	0.044
P18-bloque 5	4.962	1-35	0.032
P19-bloque 4	4.238	1-35	0.047

Tabla 3. valores del estadístico F para el código de contraste X1 (estrés prenatal vs. control) en la prueba de ANOVA de una vía de la tasa de actividad de los sujetos.

Aprendizaje de Lugar

Reportes en la literatura han encontrado efectos adversos o benéficos del estrés prenatal o postnatal sobre el aprendizaje de lugar en ratas (e.g. Lemaire, et al., 2000; Catalani, et al., 1993). Así, con la finalidad de evaluar los efectos del estrés prenatal o postnatal y la combinación de ambos sobre el aprendizaje de lugar, en el presente trabajo se entrenó a los sujetos experimentales y controles de un mes de edad en el laberinto de Barnes. En este estudio se estableció como criterio de aprendizaje, es decir el punto en el cual se consideró que los sujetos aprendieron la localización del cajón-meta, cuando ocurrió una disminución del 80% en la latencia y en el número de errores cometidos para encontrar el cajón-meta. Para los primeros 11 ensayos de entrenamiento en el laberinto el criterio de aprendizaje se calculó con base en la latencia y el número de errores cometidos por cada sujeto en el ensayo 1; de los ensayos 12 a 20 el criterio se calculó

con base en la latencia y número de errores en el ensayo 12, cuando se cambió de posición el cajón-meta; finalmente, de los ensayos 21-30 se calculó el criterio de aprendizaje con base en el registro de cada sujeto en el ensayo 21, cuando el cajón-meta se colocó nuevamente en la primera posición.

Como se observa en la tabla 4 las crías de los grupos estrés prenatal y estrés pre-postnatal tardaron de 2 a 3 ensayos más que los controles para alcanzar el criterio de 80% de reducción en la latencia y número de errores en el segundo cambio de posición del cajón-meta (ensayo 12), las diferencias entre estos grupos y el control fueron estadísticamente significativas con la prueba de Kruskal-Wallis (Latencia: $\chi^2=9.816$, $df=3$, $p<0.05$; Número de Errores: $\chi^2=9.354$, $df=3$, $p<0.05$), la comparación estrés postnatal vs. control no mostró diferencias significativas (Tabla 4).

Con el propósito de averiguar si la exposición a estrés prenatal, pre-postnatal o postnatal tuvo efectos diferenciales sobre la ejecución de los sujetos en el laberinto de Barnes, se comparó el número de ensayo en que las crías de esos grupos alcanzaron el criterio de aprendizaje. Se encontró que las crías del grupo estrés prenatal tardaron más que las crías del grupo estrés postnatal para alcanzar el criterio de aprendizaje (latencia y número de errores) después que se cambió la posición del cajón en el ensayo 12 (Tabla 4), a este respecto, la prueba U de Mann-Whitney mostró diferencias significativas (Latencia: $U=3$, $p<0.05$; Número de Errores: $U=3$, $p<0.05$). De igual forma, se encontraron diferencias significativas en el número de ensayo en que las crías del grupo estrés pre-postnatal (ensayo 6.91 ± 3.44) y estrés postnatal (ensayo 3.66 ± 0.57) alcanzaron el criterio de aprendizaje relativo a la latencia para encontrar el cajón-meta en los ensayos 1 a 11 ($U=1$, $p<0.05$). Como se observa en la tabla 4, la exposición de las crías a estrés prenatal y a la combinación estrés pre-postnatal aumentó el número de ensayos

requeridos para que se alcanzara el criterio de aprendizaje (reducción del 80% en la latencia y número de errores).

	# Ensayo ↓ 80% latencia: Posición 2	# Ensayo ↓ 80% Errores: Posición 2
Estrés Prenatal	16.75 ± 2.66	15.50 ± 1.97
Estrés Pre y Postnatal	16.08 ± 2.64	14.41 ± 1.31
Estrés Postnatal	13.66 ± 0.57	13.33 ± 0.57
Control	13.33 ± 0.57	13.33 ± 0.57

Tabla 4. Tabla que muestra el promedio del número de ensayo (# ensayo) en que cada uno de los grupos alcanzó el criterio de aprendizaje (80% de reducción ↓ en la latencia y en el número de errores). Al lado de cada media aparece su desviación estándar. Para detalle de las diferencias que fueron estadísticamente significativas ver el texto.

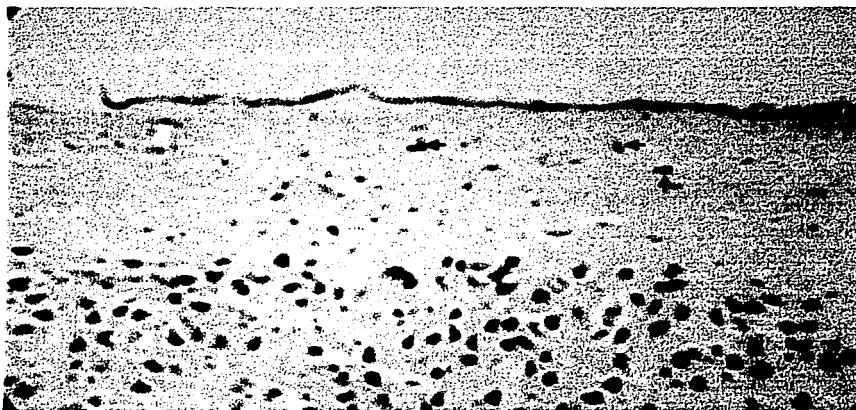
No obstante los hallazgos de diferencias entre grupos en el número de ensayo en que se alcanzó el criterio de aprendizaje, el análisis estadístico con la prueba de ANOVA multivía para medidas repetidas (Huynh-Feldt) no reveló diferencias significativas entre los grupos en la latencia para encontrar el cajón-meta ($F_{14,447-324576.34}=0.867$, $p=0.754$), ni en el número de errores cometidos ($F_{20,288-101.439}=0.896$, $p=0.736$), tampoco en los cruces por el centro de la plataforma en todos los días de entrenamiento ($F_{17,052-85.258}=0.881$, $p=0.746$). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en el promedio del número de heces fecales y de gotas de orina en cada ensayo ($F_{9,014}$).

45.075=1.222, $p=0.200$), ni en ninguna de las otras variables medidas (frecuencia de otras conductas: $F_{5.751-28.754}=1.099$, $p=0.365$; e inmovilidad: $F_{3.224-16.118}=0.916$, $p=0.559$).

Sistema Nervioso

Con el propósito de averiguar el efecto del estrés prenatal y su combinación con el estrés postnatal sobre la migración neuronal se llevaron a cabo estudios de histología del sistema nervioso central. Las técnicas histológicas se realizaron en tejido nervioso de crías cuya madre estuvo sujeta a privación de sueño MOR y nado forzado durante la gestación. El estudio morfológico del sistema nervioso reveló desarreglos citoarquitectónicos en la neocorteza y arquicorteza de las ratas que estuvieron expuestas a estrés prenatal y pre-postnatal, tales desarreglos no se observaron en la neocorteza y arquicorteza de las ratas control. Dado que morfológicamente no se encontraron diferencias entre las muestras obtenidas de los grupos estrés prenatal y estrés pre-postnatal, se presentan a continuación microfotografías de las preparaciones de tejido nervioso sin distinción de grupo, la diferencia entre los grupos estrés prenatal y estrés pre-postnatal probablemente sea de carácter cuantitativo.

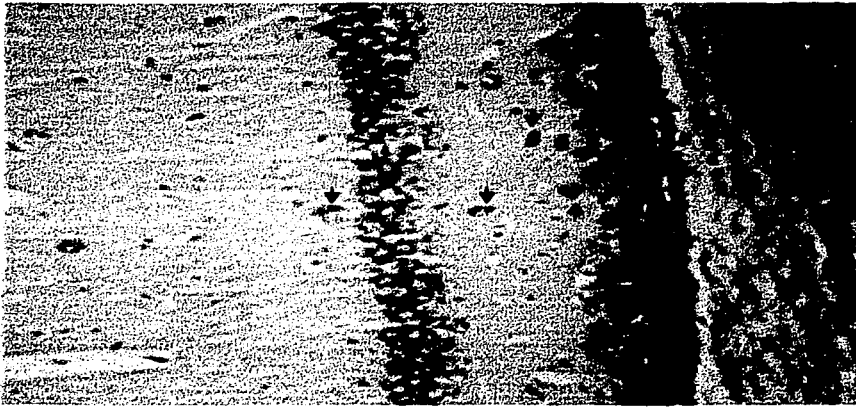
Los desarreglos citoarquitectónicos que se encontraron en la neocorteza de los sujetos experimentales (estrés prenatal y pre-postnatal) incluyen aparición de neuronas piramidales ectópicas, localizadas en la capa I (capa molecular) de la neocorteza (Figura 6), presencia de neuronas piramidales invertidas en las capas corticales III y IV (con su dendrita apical dirigida hacia la sustancia blanca subcortical en lugar de hacia la capa molecular) y desarreglo de las columnas típicamente observadas en la neocorteza de los mamíferos (Figura 6). El estudio del tejido nervioso del grupo control mostró una estratificación normal de seis capas y arreglo columnar en la neocorteza, en la capa molecular (capa I) de la neocorteza solo se encontraron arborizaciones dendríticas.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 6. Microfotografía de Neocorteza. Neuronas piramidales en la capa molecular (flechas) y desarreglo columnar de la citoarquitectura. Técnica de Klüver-Barrera.

En la arquicorteza, los desarreglos citoarquitectónicos se caracterizaron por aparición de neuronas piramidales ectópicas en los estratos *oriens* y *radiatum* de los sectores CA1 y CA2 (Cuerno de Ammon 1 y 2) del hipocampo (Figura 7). El estudio de la arquicorteza del grupo control mostró una citoarquitectura normal, con neuronas piramidales localizadas en el estrato piramidal, neuronas en cesta e interneuronas en el estrato *oriens* e interneuronas y dendritas apicales de las neuronas piramidales en el estrato *radiatum* del hipocampo. Las células que se tiñeron con la técnica para mielina y neuronas de Klüver-Barrera en los estratos *oriens* y *radiatum* del hipocampo de animales control fueron neuronas con soma pequeño, característico de las interneuronas, y no células con gran soma como el de las neuronas piramidales.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 7. Microfotografía del sector CA1 (Cuerno de Ammon 1) del Hipocampo. Neuronas piramidales ectópicas en los estratos *oriens* y *radiatum* (flechas). Técnica de Klüver Barrera.

Por otro lado, en la corteza cerebelosa, otra región filogénicamente antigua, se encontraron neuronas de Purkinje con árboles dendríticos pobremente ramificados en contraste con neuronas adyacentes con ricas arborizaciones dendríticas en la misma preparación histológica (Figura 8), esto tanto en el cerebelo de ratas que estuvieron en estrés prenatal, como de las que estuvieron en condiciones de estrés pre y postnatal.



Figura 8. Microfotografía de corteza cerebelosa. Neurona de Purkinje con rica arborización dendrítica (A) y con pobre arborización dendrítica (B) en la misma preparación histológica. Técnica de Golgi.

Discusión

Los propósitos de este estudio fueron averiguar los efectos del estrés prenatal y postnatal sobre la migración neuronal, la ejecución de los sujetos experimentales en una prueba de aprendizaje de lugar y la conducta de nado de la rata. Como se discutirá en ésta sección el estrés prenatal y pre-postnatal tuvo efectos adversos sobre el desarrollo del sistema nervioso, sobre la conducta de los sujetos experimentales en condiciones de nado forzado y sobre el aprendizaje de lugar en las crías de un mes de edad.

Los hallazgos en el sistema nervioso central, particularmente la aparición de neuronas piramidales ectópicas en la capa I de la neocorteza y en los estratos *oriens* y *radiatum* del hipocampo, así como la presencia de neuronas piramidales invertidas en las capas III y IV y el desarreglo columnar en la neocorteza de las ratas que se sometieron a estrés prenatal y pre-postnatal, son indicios claros de alteración en la migración neuronal.

El trastorno de migración neuronal que se encontró en el presente trabajo en los grupos de estrés prenatal y pre-postnatal apoya la explicación que Gould, Woolley y McEwen (1991) y Gould, Woolley, Cameron et al. (1991) dieron a sus hallazgos en el giro dentado de ratas que fueron tratadas con corticosterona entre los días 2 y 6 de la vida postnatal. Gould, Woolley y McEwen (1991), y Gould Woolley, Cameron et al. (1991) propusieron que probablemente los glucocorticoides alteraron la migración de las neuronas granulares desde su lugar de nacimiento (el hilio) hasta su posición final en el giro dentado adulto, ya que se encontró gran cantidad de neuronas recién nacidas y neuronas muertas en el lugar de nacimiento y muy pocas localizadas en su posición final en el giro dentado y se sabe que la migración de neuroblastos para constituir las neuronas granulares del giro dentado ocurre durante las dos primeras semanas de vida postnatal, cuando los niveles normales de glucocorticoides circulantes son muy bajos (Rickmann, Amaral & Cowan, 1987).

En el presente trabajo se encontró que el estrés prenatal y la combinación estrés prenatal y postnatal alteró la migración neuronal normal de las células piramidales de la neocorteza y de la arquicorteza, en contraparte con el trabajo realizado por Gould, Woolley y McEwen (1991) y Gould, Woolley, Cameron et al (1991) en el que se alteró únicamente la migración de las neuronas granulares del giro dentado. La diferencia entre los dos hallazgos puede deberse a que en el presente estudio el procedimiento de estrés se inició desde el día que comenzó la formación del tubo neural (día 10 de la gestación) y hasta el día 19 de la vida postnatal, por lo que se abarcó todo el período crítico del desarrollo del sistema nervioso, lo cual produjo efectos sobre otras neuronas, diferentes de las neuronas granulares.

El hallazgo de neuronas ectópicas en la neocorteza y en la arquicorteza en cerebros de ratas de 45 días de edad no corresponde al proceso de migración activa, dado que en la rata la migración neuronal en gran escala termina hacia la segunda semana de vida postnatal, cuando las neuronas granulares en el giro dentado, últimas en generarse, migran a sus posiciones finales (Rickmann, Amaral & Cowan, 1987). Después de la segunda semana de vida postnatal, la migración neuronal continua sólo en los sitios en los que ocurre neurogénesis durante la vida adulta del animal, el bulbo olfativo y el giro dentado (Altman & Das, 1965).

El presente trabajo constituye el primer reporte de alteraciones en la migración neuronal subsecuentes a la exposición del organismo a estrés prenatal y a la combinación estrés pre y postnatal. Dado que se sabe que los cambios fisiológicos observados en condiciones de privación de sueño son similares a los que se observan durante la exposición del organismo a estrés (e.g. incremento en la liberación de glucocorticoides) (Rechtschaffen, et al., 1989; Kushida, et al., 1989; Brock, et al., 1994; Landis, et al., 1999) y puesto que la privación de sueño MOR en la rata gestante afecta de manera indirecta al feto a través de cambios hormonales en el torrente sanguíneo (Suchecki & Palermo, 1991), en el presente trabajo se consideró que la alteración en la migración neuronal observada en las crías de 45 días de edad, cuya madre estuvo sujeta a privación de sueño MOR y nado forzado durante la gestación, constituye un hecho subsecuente al estrés prenatal y a la combinación de estrés pre-postnatal.

Adicionalmente, en el presente estudio se considera que los hallazgos de alteración en la migración neuronal en ratas expuestas a estrés prenatal y pre-postnatal no son consecuencia de la privación selectiva de sueño MOR porque estudios previos en la literatura reportan que la privación de esta fase de sueño en crías de rata de 8 a 21 días

de edad produjo reducción significativa en el peso del encéfalo y en la plasticidad hipocámpica, pero no produjo alteraciones de la migración neuronal (Mirmiran, 1995).

Las alteraciones de la migración neuronal encontradas en la neocorteza y arquicorteza de las crías de rata que se expuso a estrés prenatal y pre-postnatal constituye una evidencia experimental que corrobora las observaciones clínicas y epidemiológicas relativas a los efectos del estrés prenatal sobre el desarrollo de la progeñie en seres humanos. El estrés durante la gestación en el ser humano tiene correlación positiva y estadísticamente significativa, con incremento en la incidencia en la progeñie de algunos trastornos neuropsiquiátricos que tienen como sustrato anatómico alteraciones de la migración neuronal, como la esquizofrenia o el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (Susser & Lin, 1996; Cannon & Murray, 1998; McIntosh, et al., 1995; Stott, 1973).

El estudio del sistema nervioso central de las ratas bajo estrés prenatal y pre-postnatal también reveló alteraciones en la dendroarquitectura de las neuronas de Purkinje, como la presencia de patrones contrastantes de ramificación dendrítica: ricas arborizaciones dendríticas en algunas neuronas de la corteza cerebelosa y pobre arborización en otras neuronas de Purkinje de la misma preparación histológica. Previamente se han reportado efectos deletéreos del estrés prenatal sobre la dendroarquitectura de neuronas piramidales de las cortezas visual (Granados, et al., 1997, 1998) y motora (Sicilia, et al., 1994) que semejan a los patrones de pobre arborización dendrítica encontrados en este experimento. Sin embargo, el hallazgo en las neuronas de Purkinje es la primera vez que se reporta, lo que significa que el estrés prenatal y la combinación de estrés pre y postnatal alteró de manera no selectiva la morfología y funcionalidad de las neuronas del sistema nervioso central, probablemente

en función de la concentración de receptores a glucocorticoides. Se sabe que el cerebelo durante las dos primeras semanas de vida postnatal posee un gran número de receptores a glucocorticoides (Pavlik & Buresová, 1984) y que durante ese período las neuronas de Purkinje establecen la mayoría de sus sinapsis al incrementar las ramificaciones de su árbol dendrítico (Jacobson, 1991). Por lo que la exposición de las crías a estrés prenatal y a estrés durante los primeros 19 días de vida postnatal pudo interferir con el establecimiento de sinapsis en las neuronas de Purkinje.

Por otro lado, reportes previos en la literatura describen que las crías cuya madre estuvo expuesta a estrés durante la gestación presentaron decrementos en el peso corporal del 20 al 25% al momento del nacimiento (Ahlbom, et al., 2000) y del 13.09% a los 14 días de vida postnatal (Sicilia, et al., 1994) o bien, reportan que no hubo efectos del estrés prenatal (inmovilización) sobre el peso corporal de la progenie (Granados, et al., 1998). Por otro lado, respecto a estrés postnatal (tratamiento neonatal con dosis altas de glucocorticoides) se ha reportado disminución del peso corporal de las crías en el día 6 de la vida postnatal (Gould, Woolley, McEwen, 1991) y durante toda la fase de lactancia y edad adulta (3 meses de edad) (Catalani, et al., 1993). Contrario a esos reportes en la literatura relativos a los efectos del estrés sobre el peso corporal de las crías, en el presente estudio se encontró que los sujetos que estuvieron expuestos a estrés prenatal y a la combinación de estrés prenatal y postnatal pesaron más que las crías del grupo control y del grupo estrés postnatal hasta antes de la edad de destete (día 22 de la vida postnatal). Sin embargo, el aumento del peso corporal de las crías bajo estrés prenatal que se encontró en el presente trabajo no es un fenómeno único. Previamente Dahlof, Hard y Larsson (1978) reportaron que las crías de ratas que estuvieron en

hacinamiento durante los días 14 al 21 de la gestación pesaron más que los controles al momento del nacimiento y durante las dos primeras semanas de vida.

El aumento en el peso corporal en conjunto con el adelanto en la edad de apertura de los ojos en los grupos estrés prenatal y estrés pre y postnatal, cuyas crías abrieron los ojos un día antes que el control, indica una maduración más rápida en las crías de esos grupos con respecto a las crías control. Previamente, en la literatura se ha reportado aumento en la velocidad de maduración subsecuente a períodos de estrés prenatal similares a los empleados en el presente estudio (días 10-20 de la gestación) (Fride & Weinstock, 1984). Fride y Weinstock (1984) encontraron adelanto en la maduración de reflejos posturales en crías de dos semanas de edad, cuya madre estuvo expuesta a luz intensa y ruido de más de 90 decibeles durante los días 14 al 21 de la gestación, en contraste con crías que se sometieron a estrés prenatal durante toda la gestación (las que presentaron retrasos en la maduración) y con crías control.

Respecto al aprendizaje de lugar, en este estudio se encontró que las crías de los grupos de estrés prenatal y de los grupos en que se combinó estrés prenatal con postnatal necesitaron de un mayor número de ensayos para alcanzar el criterio de aprendizaje establecido (reducción del 80% en la latencia para encontrar el cajón-meta y reducción del 80% en el número de errores cometidos). Las diferencias entre los grupos se observaron después del primer cambio de posición del cajón-meta, cuando los sujetos tuvieron que re-aprender la localización del cajón. Previamente, en la literatura se reportó que el estrés prenatal (inmovilización de la madre en los días 15 a 21 de la gestación) deterioró la ejecución de los animales experimentales de cuatro meses de edad en el laberinto de agua de Morris en comparación con sus controles de la misma edad (Lemaire, et al., 2000). Aunque Lemaire et al. reportaron que las crías del grupo

estrés prenatal presentaron aumento en la latencia para encontrar la plataforma en el laberinto de agua de Morris y en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en esa variable, ambos reportes son comparables porque en los dos se encontraron efectos deletéreos del estrés prenatal sobre la ejecución de los sujetos experimentales.

Por otro lado, relativo a procedimientos que semejan al estrés postnatal, e.g. administración neonatal de algunas de las hormonas que se liberan durante estrés (glucocorticoides y factor liberador de corticotrofina) se han descrito resultados paradójicos en las crías que estuvieron bajo tratamiento. Brunson et al. (2001) encontraron que ratas de 3, 6 y 10 meses de edad que recibieron inyecciones de factor liberador de corticotrofina durante los días 11 y 12 de la vida postnatal presentaron decline progresivo en la ejecución en el laberinto de agua de Morris en comparación con el grupo control (e.g. aumento en la latencia para encontrar la plataforma). Por el contrario, Catalani et al. (1993) mostraron que crías a las que se administró neonatalmente glucocorticoides (vía la leche materna) aprendieron más rápidamente la localización de la plataforma en el laberinto de agua de Morris con respecto al grupo control a las edades de 21 días y 1, 2 y 3 meses.

En el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas en la ejecución en el laberinto de Barnes entre las crías que nadaron del día postnatal 2 al 19 y el grupo control cuando se probaron al mes de edad. La discrepancia que se observa entre los resultados obtenidos en el presente estudio y los resultados de Brunson et al. (2001) (deterioro en el aprendizaje de lugar) y Catalani et al. (1993) (facilitación en el aprendizaje de lugar) no se debe a la diferencia en las pruebas de aprendizaje empleadas, puesto que tanto el laberinto de agua de Morris como el laberinto de Barnes funcionan

bajo el mismo principio: el sujeto experimental aprende la localización de un punto de escape en condiciones ligeramente aversivas (luz intensa para el caso del laberinto de Barnes y agua para el caso del laberinto de Morris) (Chamizo, 2002). Las discrepancias entre los resultados relativos al aprendizaje de lugar en crías de estrés postnatal que aquí se reportan y el trabajo de Brunson et al. (2001) y Catalani et al. (1993) probablemente se deben a los efectos de los modelos empleados, estrés postnatal-nado forzado en este trabajo y administración de hormonas que se liberan durante estrés en los estudios de Brunson et al. (2001) y Catalani et al. (1993)

Por otro lado, en la literatura se ha descrito que manipulaciones que semejan al estrés postnatal (e.g. manipulación táctil, Sternberg & Ridgway, 2003) tuvieron efectos paradójicos sobre la conducta de sujetos que estuvieron expuestos a estrés prenatal. Algunos reportes indican que la manipulación táctil de las crías en las primeras dos semanas de vida postnatal, considerada como estrés postnatal (Sternberg & Ridgway, 2003), disminuyó los efectos adversos del estrés prenatal sobre algunas conductas de la rata adulta, como la analgesia y la respuesta al estrés (Wakshlak & Weinstock, 1990; Sterberg & Ridgway, 2003). Por el contrario, también se reportó que la manipulación táctil de las crías incrementó los efectos adversos del estrés prenatal sobre las conductas de analgesia de los sujetos (Smythe, McCormick, Rochford & Meaney, 1994). En el presente trabajo el estrés postnatal no deterioró la ejecución de los sujetos en el laberinto de Barnes, ni empeoró la ejecución de las crías que estuvieron expuestas a estrés prenatal. Aunque no se obtuvieron diferencias significativas en el número de ensayo en que se alcanzó el criterio de aprendizaje en el laberinto de Barnes entre las crías de los grupos estrés prenatal y estrés pre-postnatal, los datos parecen indicar que el estrés

postnatal redujo el número de ensayos requeridos para que las crías que estuvieron sujetas a estrés prenatal alcanzaran el criterio de aprendizaje en el laberinto de Barnes.

La disminución en la eficacia del aprendizaje de lugar en las crías de los grupos estrés prenatal y pre-postnatal, es decir el retraso en el número de ensayo en que las crías de esos grupos alcanzaron el criterio de aprendizaje en el laberinto de Barnes, probablemente tiene como substrato neuroanatómico las alteraciones citoarquitectónicas que se encontraron en la arquicorteza y neocorteza de esos sujetos experimentales.

Finalmente, en este estudio se encontró que las crías cuya madre estuvo en condiciones de estrés durante la gestación tuvieron mayor actividad que las ratas control en condiciones de nado forzado en agua a una temperatura de 32°C, esas crías también nadaron en promedio más tiempo que las crías cuya madre no estuvo sujeta a manipulación alguna durante la gestación. El incremento en la duración de la sesión de nado en las crías de los grupos estrés prenatal parece reflejar, al igual que el peso corporal y la edad de apertura de los ojos, una maduración más rápida que las crías control. La mayor duración de la sesión en los grupos experimentales implica que las crías que estuvieron sujetas a estrés prenatal lograron permanecer a flote con la nariz afuera del agua por más tiempo que las crías control, lo que significa dos cosas: que tales crías presentaron un rápido desarrollo de las habilidades motoras necesarias para la conducta de nado y que esas crías aprendieron mejor que los controles cómo permanecer a flote después de una primera sesión de nado.

Clásicamente, en el área de investigación relativa al nado forzado se ha utilizado como variable dependiente la inmovilidad observada en las ratas después de algún tiempo de nado (Porsolt, LePichon & Jalfre, 1977; Hogdson, 1984; Prince & Anisman, 1984). Sin embargo, ésta es una forma indirecta de evaluar los cambios conductuales

que tuvieron lugar en el organismo después de la exposición a estrés. Posteriormente se sugirió que una manera más directa de evaluar tales cambios conductuales subsecuentes a estrés en condiciones de nado forzado era el registro de la actividad de los sujetos experimentales (Bruner & Vargas, 1992, 1994; de Pablo, et al., 1989). Así, en el presente trabajo se usó como una variable dependiente el nivel de actividad (cruces de una zona a otra en la tina de nado forzado) de los sujetos.

Como se mencionó anteriormente, en este estudio se encontró que las crías que estuvieron en condiciones de estrés prenatal cruzaron más veces de una zona a otra de la tina de nado forzado, es decir tuvieron mayor actividad, que las crías cuya madre permaneció libre de manipulación durante la gestación. Este hallazgo de incremento en la actividad de los sujetos se contrapone a lo que previamente encontraron Alonso et al. (1991, 1997) y Drago et al. (1999) respecto a que el estrés prenatal aumentó el tiempo de inmovilidad de ratas en condiciones de nado forzado. Las diferencias entre el presente trabajo y los resultados de Alonso et al. (1991, 1997) y Drago et al. (1999) recapitulan las diferencias encontradas en estudios relativos a los efectos del estrés sobre la conducta de nado en ratas adultas (Bruner & Vargas, 1992, 1994; de Pablo, et al., 1989 vs. Prince & Anisman, 1984), en los que se encontró que el estrés previo o concurrente a las condiciones de nado aumentó la actividad de los sujetos experimentales adultos en lugar de reducirla. Las diferencias entre el presente trabajo y los experimentos de Alonso et al. (1991, 1997) y Drago et al. (1999) pueden deberse a que en los estudios de esos investigadores se colocó a las ratas en condiciones de nado en agua a una temperatura de 25°C, punto cercano a la temperatura "neutra" para estrés (23°C) encontrada por Bruner y Vargas (1994), en la que se mostró que las ratas tuvieron una baja tasa de actividad.

Los hallazgos de este estudio relativos a la actividad de las ratas en condiciones de nado son similares a los que Bruner y Vargas (1994) describieron en ratas adultas en condiciones de nado forzado en agua a temperaturas extremas. Al igual que el reporte de Bruner y Vargas, quienes encontraron que la tasa de actividad de los sujetos varió en función del aumento o disminución de la temperatura del agua (temperaturas extremas, mayor tasa de actividad, estrés más intenso), en este estudio se encontró que las ratas que se sometieron a estrés previo a las condiciones de nado (estrés prenatal) presentaron mayor actividad que las ratas que no estuvieron bajo estrés prenatal, esto en agua a 32°C. Lo que confirma los reportes de Bruner y Vargas (1994) y de Pablo et al. (1989), que el estrés previo o concurrente a las condiciones de nado incrementa la actividad de los sujetos.

El mayor nivel de actividad (más cruces en la tina de nado) que se encontró en las crías de los grupos de estrés prenatal del presente experimento apoya también a los reportes en la literatura de los efectos del estrés prenatal sobre la "emocionalidad" de los sujetos experimentales cuando son adultos. En esa área se ha descrito un fenómeno conocido como hiperresponsividad al estrés, que consiste en que las ratas adultas que estuvieron sujetas a estrés durante la gestación tienen mayores respuestas emocionales que las ratas control cuando son expuestas a condiciones de estrés. Entre las respuestas "emocionales" observadas en las ratas que estuvieron bajo estrés prenatal y que fueron re-expuestas a condiciones de estrés se encuentran incrementos en la defecación (Thompson, 1957; Sternberg & Ridgway, 2003) y aumento en los niveles sanguíneos de corticosterona (van Oers, de Kloet & Levine, 1998), parámetros que sobrepasaron las respuestas emitidas por los sujetos control en situaciones de estrés. Así, en este estudio, el mayor nivel de actividad en condiciones de nado de las ratas que estuvieron bajo

estrés prenatal parece reflejar aumento en la responsividad al estrés, similar al que se encontró en otros trabajos (Thompson, 1957; Sternberg, & Ridgway, 2003).

En este estudio también se encontró que las crías de todos los grupos (estrés prenatal-privación de sueño MOR, estrés prenatal-nado forzado y control) tuvieron una alta tasa de actividad durante los primeros minutos de la sesión de nado y un decremento progresivo en la tasa de actividad hacia los últimos minutos de la sesión. Este hallazgo es similar al que reportaron Bruner y Vargas (1992), ellos encontraron que dentro de una misma sesión, con duración de 20 minutos, se producían decrementos consistentes en la tasa de actividad de los sujetos con el solo paso del tiempo. Es decir, los sujetos nadaban mucho durante los primeros minutos de la sesión y hacia al final de la sesión disminuían su tasa de actividad.

El patrón de gran actividad al inicio de la sesión de nado y decremento progresivo en la actividad con el paso del tiempo apareció primero en las crías cuya madre estuvo en condiciones de estrés durante la gestación (en el día postnatal 9) que en las crías del grupo control (en las que se presentó en el día postnatal 11). El adelanto en la aparición de ese patrón de actividad en condiciones de nado puede deberse a que el estrés prenatal aceleró la maduración de los sujetos experimentales con respecto a las crías control, como se ha descrito previamente en este trabajo en cuanto al peso corporal, la edad de apertura de los ojos y el tiempo de nado y como lo describieron Fride y Weinstock (1984) respecto a la maduración de reflejos posturales.

Por otro lado, la disminución en la actividad de los sujetos dentro de la misma sesión de nado se ha interpretado de dos formas diferentes, por un lado en el campo de la neurofarmacología se le ha considerado como evidencia de "desesperanza conductual", puesto que las ratas están expuestas a una situación (nado) inescapable e incontrolable.

Esta línea de investigación ha llevado a la interpretación de la inmovilidad observada en condiciones de nado forzado como un modelo animal de depresión (Porsolt, LePichon & Jalfre, 1977; Prince & Anisman, 1984). Por el contrario, una interpretación más reciente ha señalado que de hecho la conducta de inmovilidad de la rata después de algunos minutos de nado es más adaptativa, en términos del gasto energético, que una gran movilidad (Bruner & Vargas, 1992, 1994; de Pablo, et al., 1989). Además, la posibilidad que la disminución de la actividad de los sujetos en condiciones de nado se deba a fatiga muscular se ha reducido gracias a los experimentos pioneros de Richter (1957), quien encontró que ratas no domesticadas nadaban períodos tan largos como 80 horas. Asimismo, en ésta línea de investigación se ha descrito que los sujetos sobrevivirán más tiempo cuanto menor sea su movilidad en las condiciones de nado (Binik, et al., 1977; Binik, Deikel, Theriault, Shustack & Balthazard, 1979). Así, con base en los resultados que se han obtenido siguiendo ésta línea de investigación, se ha postulado que las ratas en condiciones de nado forzado pronto aprenden a inhibir la conducta de nado que no es funcional (nado rápido y agitado) y adoptan una conducta más pasiva y conservadora de energía (flotar) (Hawkins, Hicks, Phillips & Moore, 1978; Bruner & Vargas, 1992, 1994; de Pablo, et al., 1989; Hodgson, 1984).

Respecto a los efectos del estrés prenatal sobre la conducta de nado de la rata, varios investigadores han postulado que el estrés prenatal es un factor que predispone a los organismos adultos para el desarrollo de depresión. Tal hipótesis se basa en los hallazgos de aumento en la inmovilidad en condiciones de nado forzado en agua a una temperatura de 25°C en ratas de tres meses de edad que estuvieron sujetas a estrés durante la gestación (Alonso, et al., 1991, 1997; Drago, et al., 1999) y está de acuerdo con la interpretación que Porsolt et al. (1977) dieron a la inmovilidad en condiciones de

nado subsecuente a estrés. Sin embargo, los hallazgos de incremento en la actividad de los sujetos en este estudio indican que las ratas que estuvieron en estrés prenatal contrario a presentar "desesperanza conductual" tienen hiperresponsividad al estrés (mayor actividad que los controles) y que, aunque en el transcurso de la sesión reducen su actividad, ésta generalmente es mayor que la de los controles.

Conclusiones

En este estudio se encontró que el estrés prenatal y su combinación con el estrés postnatal produjo cambios estructurales en el sistema nervioso, que se caracterizaron por una alteración en la migración neuronal en la neocorteza y arquicorteza de ratas de 45 días de edad.

El período de la gestación en que se expuso a los sujetos a estrés prenatal probablemente contribuyó a la aceleración del proceso de maduración corporal y conductual de las crías, puesto que éstas presentaron aumento el peso corporal, adelanto en el día de la apertura de los ojos y mayor tiempo de nado que las crías control.

Asimismo, el presente trabajo contribuyó a clarificar los efectos del estrés prenatal sobre la conducta de nado de ratas de menos de un mes de edad, en esta investigación se encontró que el estrés prenatal aumentó la respuesta al estrés de los sujetos experimentales en comparación con el grupo control en una situación de nado forzado.

Finalmente, en el presente trabajo se encontró que el estrés prenatal y su combinación con estrés postnatal empobreció la ejecución de los sujetos experimentales en una prueba de aprendizaje de lugar, mientras que el estrés postnatal no tuvo efectos aparentes sobre el aprendizaje de lugar en la rata.

Referencias

- Ahlbom, E., Gogvadze, V., Chen, M., Celsi, G. & Ceccatelli, S. (2000). Prenatal exposure to high levels of glucocorticoids increases the susceptibility of cerebellar granule cells to oxidative stress-induced cell death. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97: 14726-14730.
- Altman, J. & Das, G. D. (1965). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *Journal of Comparative Neurology*, 124: 319-335.
- Alonso, S. J., Arevalo, R., Afonso, D. & Rodriguez, M. (1991). Effects of maternal stress during pregnancy on forced swimming test behavior of the offspring. *Physiology and Behavior*, 50: 511-517.
- Alonso, S. J., Navarro, E., Santana, C. & Rodriguez, M. (1997). Motor lateralization, behavioral despair and dopaminergic brain asymmetry after prenatal stress. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 58: 443-448.
- Anisman, H. A. & Zacharko, R. M. (1982). Depression: The predisposing influence of stress. *Behavioral Brain Science*, 5: 89-137.
- Archer, J. E. & Blackman, D. E. (1970). Prenatal psychological stress and offspring behavior in rats and mice. *Developmental Psychobiology*, 4: 193-248.
- Bakshi, V. P., Smith-Roe, S., Newman, S. M., Grigoriadis, D. E. & Kalin, N. H. (2002). Reduction of stress-induced behavior by antagonism of corticotropin-releasing hormone 2 (CRH2) receptors in lateral or CRH1 receptors in amygdala. *The Journal of Neuroscience*, 22: 2926-2935.

- Barnes, C. A. (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative Physiological Psychology, 93*: 74-104.
- Bergman, B. M., Everson, C. A., Kushida, C. A., Fang, V. S., Leitch C. A., Schoeller, D. A., Refetoff, S. & Rechtschaffen, A. (1989). Sleep deprivation in the rat: V. Energy use and mediation. *Sleep, 12*: 31-41.
- Binik, Y. M., Deikel, S. M., Theriault, G., Shustack, B. & Balthazard, C. (1979). Sudden swimming deaths: cardiac function, experimental anoxia and learned helplessness. *Psychophysiology, 16*: 381-391.
- Binik, Y. M., Theriault, G. & Shustack, B. (1977). Sudden death in the laboratory rat: cardiac function, sensory and experimental factors in swimming deaths. *Psychosomatic Medicine, 39*: 82-92.
- Bohn, M. C. (1984). Glucocorticoid induced teratologies of the nervous system. En: Yanai, J. Ed. *Neurobehavioral Teratology* (pp. 365-387). New York: Elsevier.
- Brock, J. W., Farooqui, S. M., Ross, K. D., Payne, S. & Prasad, C. (1994). Stress-related behavior and central norepinephrine concentrations in the REM sleep-deprived rat. *Physiology and Behavior, 55*: 997-1003.
- Brown, A. S., van de Os, J., Driessens, C., Hoek, H. W. & Susser, E. S. (2000). Further evidence of relation between prenatal famine and major affective disorder. *American Journal of Psychiatry, 157*: 190-195.
- Bruner, C. & Vargas, I. (1992). Efectos de la duración de la sesión y del intervalo entre sesiones sobre la actividad de las ratas en una situación de nado. *Revista Mexicana de Psicología, 9*: 91-99.

- Bruner, C. & Vargas, I. (1994). The activity of rats in a swimming situation as a function of water temperature. *Physiology and Behavior*, 55: 21-28.
- Brunson, K. L., Eghbal-Ahmadi, M., Bender, R., Chen, Y. & Baram, T. Z. (2001). Long-term, progressive hippocampal cell loss and dysfunction induced by early-life administration of corticotrofin-releasing hormone reproduce the effects of early-life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98: 8856-8861.
- Cannon, M. & Murray, R. M. (1998). Neonatal origins of schizophrenia. *Archives of Diseases of Child*, 78: 1-3.
- Cannon, W. B. (1929). *Bodily Changes in Pain, Hunger, Fear and Rage*. New York: Appleton.
- Cannon, W. B. (1941). *La Sabiduría del Cuerpo*. (J. M., Bellido, Trad.). México: Seneca. (Trabajo original publicado en 1932).
- Catalani, A., Marinelli, M., Scaccianoce, S., Nicolai, R., Muscolo, L. A. A., Porcu, A., Korányi, L., Piazza, P. V. & Angelucci, L. (1993). Progeny of mothers drinking corticosterone during lactation has lower stress-induced corticosterone secretion and better cognitive performance. *Brain Research*, 624: 209-215.
- Chamizo, V. D. (2002). Spatial learning: conditions and basic effects. *Psicológica*, 23: 33-57.
- Chernoff, N., Miller, D. B., Rosen, M. B. & Mattscheck, C. L. (1988). Developmental effects on maternal stress in the CD-1 mouse induced by restraint on single day during the period of major organogenesis. *Toxicology*, 51: 57-65.
- Chrousos, G. P. (1998). Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptative response, the 1997 Hans Selye memorial lecture. En: Csermaly, P. Ed.

- Stress of Life, from Molecules to Man. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851: 311-335.
- Chrousos, G. P. & Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *Journal of the American Medical Association*, 267: 1244-1252.
- Coenen, A. M. & Luitelaar, L. J. M. (1985). Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. *Physiology and Behavior*, 35:501-504.
- Cullinan, W. E., Herman, J. P., Helmrich, D. L. & Watson, S. J. (1995). A neuroanatomy of stress. En: Friedman, M. J., Charney, D. S. & Deutch, A. Y. (Eds.), *Neurobiological and Clinical Consequences of Stress: from Normal Adaptation to Post Traumatic Stress Disorder* (pp.3-26). Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Dahlof, L.-G., Hard, E. & Larsson, K. (1978). Influence of maternal stress on the development of the fetal genital system. *Physiology and Behavior*, 20: 193-195.
- de Kloet, E. R., Oitzl, M. S. & Jöels, M. (1999). Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends in Neuroscience*, 22: 422-426.
- de Kloet, E. R., Rosenfeld, P., Van Eekelen, J. A. M., Sutanto, W. & Levine, S. (1988). Stress, glucocorticoids and development. *Progress in Brain Research*, 73: 101-120.
- de Pablo, J. M., Parra, A., Segovia, S. & Gillamón, A. (1989). Learned immobility explains the behavior of rats in the forced swimming test. *Physiology and Behavior*, 46: 229-237.

- Dinan, T. G. (1996). Serotonin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Life Sciences*, 58: 1683-1694.
- Drago, F., Di Leo, F. & Giardina, L. (1999). Prenatal stress induces body weight deficit and behavioral alterations in rats: the effect of diazepam. *European Neuropsychopharmacology*, 9: 239-245.
- Eayrs, J. T. & Goodhead, B. (1959). Postnatal development of the cerebral cortex in the rat. *Journal of Anatomy (Londres)*, 93: 385-402.
- Estes, W. K. & Skinner, B. F. (1941). Some quantitative properties of anxiety. *Journal of Experimental Psychology*, 29: 390.
- Fride, E. & Weinstock, M. (1984). The effects of prenatal exposure to predictable or unpredictable stress on early development in the rat. *Developmental Psychobiology*, 17: 651-660.
- Glazer, H. I. & Weiss, J. M. (1976). Long-term interference effect: an alternative to "learned helplessness". *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavioral Procedures*, 2: 202-213.
- Gould, E., Woolley, C. S., Cameron, H. A., Daniels, D. C. & McEwen, B. S. (1991). Adrenal steroids regulate postnatal development of the rat dentate gyrus: II. Effects of glucocorticoids and mineralocorticoids on cell birth. *Journal of Comparative Neurology*, 313: 486-493.
- Gould, E., Woolley, C. S. & McEwen, B. S. (1991). Adrenal steroids regulate postnatal development of the rat dentate gyrus: I. Effects of glucocorticoids on cell death. *Journal of Comparative Neurology*, 313: 479-485.

- Granados, R. L., Martínez, A. M. A., Sicilia, A. G., Valenzuela, P. A. & Pérez-Torrero, E. (1997). Efectos del estrés prenatal sobre la ramificación neuronal en la corteza visual de ratas neonatas. *Archivos de Neurociencias (México)*, 2: 156-161.
- Granados, R. L., Sicilia, A. G., Martínez, A. M. A., Pérez-Torrero, E., Valenzuela, P. A., Serrano, G. N. & Díaz-Cintra, S. (1998). Densidad de espinas dendríticas en neuronas piramidales de la corteza visual de ratas bajo estrés prenatal. *Archivos de Neurociencias (México)*, 3: 128-134.
- Hawkins, J., Hicks, R. A., Phillips, N. & Moore, J. D. (1978). Swimming rats and human depression. *Nature*, 274: 512.
- Hodgson, J. A. (1984). Swimming immobility of REM sleep deprived rats reared in different environments. *Physiology and Behavior*, 32: 17-23.
- Jacobson, M. (1991). *Developmental Neurobiology*. 2ª. ed. (pp. 57-114). Nueva York: Plenum Press.
- Kannan, C. R. (1988). *The Adrenal Gland* (pp. 1-29). New York: Plenum Medical Book.
- Keller, F. S. & Schoenfeld, W. N. (1950). *Principles of Psychology*. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Kim, J. J. & Diamond, D. M. (2002). The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature Reviews Neuroscience*, 3: 453-462.
- Klüver, H. & Barrera, E. (1953). A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 12: 400-
- Kollack-Walker, S., Day, H. E. W. & Akil, H. (2000). Central stress neurocircuits. En: Fink, G. Ed. *Encyclopedia of Stress*. (vol. 1, pp. 414-423). New York: Academic Press.

- Kushida, C. A., Bergman, B. M. & Rechtschaffen, A. (1989). Sleep deprivation in the rat: IV. Paradoxical sleep deprivation. *Sleep*, 12: 22-30.
- Landis, C. A., Reeder, D. & Tsuji, J. (1999). REM sleep deprivation effects on natural killer cell activity, corticosterone and norepinephrine in 80 and 160 day old F344 male rats. *Sleep*, 22 (Suppl): S234-S235.
- Lemaire, V., Koehl, M., Le Moal, M. & Abrous, D. N. (2000). Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy Sciences*, 97: 11032-11037.
- Marín, O. & Rubenstein, J. L. R. (2003). Cell migration in the forebrain. *Annual Review of Neuroscience*, 26: 441-483.
- McEwen, B. S. (2000). Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Progress in Brain Research*, 122: 25-34.
- McEwen, B. S. (2000a). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Research*, 886: 172-189.
- McIntosh, D. E., Mulkins, R. S. & Dean, R. S. (1995). Utilization of maternal perinatal risk indicators in the differential diagnosis of ADHD and UADD children. *International Journal of Neuroscience*, 81: 35-46.
- Meerlo, P., Horvath, K. M., Luiten, P. G. M., Angelucci, L., Catalani, A. & Koolhaas, J. M. (2001). Increased maternal corticosterone levels in rats: effects on brain 5-HT_{1A} receptors and behavioral coping with stress in adult offspring. *Behavioral Neuroscience*, 115: 1111-1117.
- Meier, A. (1985). Child psychiatric sequelae of maternal war stress. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 72: 505-511.

- Mirmiran, M. (1995). The function of fetal/neonatal rapid eye movement sleep. *Behavioral Brain Research, 69*: 13-22.
- Morden, B., Mitchell, G. & Dement, W. C. (1967). Selective REM sleep deprivation and compensation phenomena in the rat. *Brain Research, 5*: 339-349.
- Morris, R. (1984). Developments of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods, 11*: 47-60.
- Nelson, R. J. (2000). Stress. En: Nelson, R. J. *An Introduction to Behavioral Endocrinology* (pp. 557-591). Massachusetts: Sinauer Associates.
- Ottenweller, J. E. (2000). Animal Models (Nonprimate) for human stress. En: Fink, G. Ed. *Encyclopedia of Stress* (vol.1, pp. 200-205). New York: Academic Press.
- Paré, W. P. (1964). The effect of chronic environmental stress on stomach ulceration, adrenal function, and consummatory behavior in the rat. *Journal of Psychology, 57*: 143-151.
- Pavlik, A. & Buresová, M. (1984). The neonatal cerebellum: the highest level of glucocorticoid receptors in the brain. *Developmental Brain Resesarch, 12*: 13-20.
- Porsolt, R. D., Le Pichon, M. & Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature, 266*: 730-732.
- Prince, C. R. & Anisman, H. (1984). Acute and chronic stress effects on performance in a forced-swim task. *Behavioral and Neural Biology, 42*: 99-119.
- Raedler, A. & Sievers, J. (1976). Light and electron microscopical studies on specific cells of the marginal zone in the developing rat cerebral cortex. *Anatomical Embryology, 149*: 173-181.
- Rakic, P. (1985). Limits of neurogenesis in primates. *Science, 227*: 1054-1055.

- Rechtschaffen, A., Bergman, B. M., Everson, C. A., Kushida, C. A. & Gilliland, M. A. (1989). Sleep deprivation in the rat: X. Integration and discussion of the findings. *Sleep, 12*: 68-87.
- Richter, C. P. (1957). On the phenomenon of sudden death in animals and man. *Psychosomatic Medicine, 12*: 191-198.
- Rickmann, M., Amaral, D. G. & Cowan, W. M. (1987). Organization of radial glial cells during the development of the rat dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology, 264*: 449-479.
- Sanes, D. H., Reh, T. A. & Harris, W. A. (2000). *Development of the Nervous System* (pp. 67-103). New York: Academic Press.
- Sapolsky, R. M. (1998). *Why Zebras Don't Get Ulcers, An Updated Guide To Stress, Stress Related Diseases, And Coping*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Schell, L. M. (1981). Environmental noise and human prenatal growth. *American Journal of Physiological Anthropology, 56*: 63-70.
- Selye, H. (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature, 138*: 32.
- Selye, H. (1950). *The Physiology and Pathology of Exposure to Stress. A Treatise Based on the Concepts of the General Adaptation Syndrome and the Diseases of Adaptation* (pp. 5-51) Montreal: Acta Inc.
- Selye, H. (1956). *The Stress of Life*. New York: Longmans, Green and CO.
- Sicilia, G. A., Granados, L. R. & Valenzuela, A. P. (1994). Efectos del estrés por inmovilización sobre la corteza motora en la rata. *Archivos del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (México), 9*: 21-26.
- Sidman, M. (1960). Normal sources of pathological behavior. *Science, 132*: 61-68.

- Smythe, J. M., McCormick, C. M., Rochford, J. & Meaney M. J. (1994). The interaction between prenatal stress and neonatal handling on nociceptive response latencies in male and female rats. *Physiology and Behavior*, 55: 971-974.
- Snapper, A. G., Schoenfeld, W. N. & Locke, B. (1966). Adrenal and thymus weight loss in the food-deprived rat produced by random ratio punishment schedules. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 62: 65-70
- Snapper, A. G., Shimoff, E. H. & Schoenfeld, W. N. (1969). Varying temporal relationship of an intrude aversive stimulus with time-out from responding. *Psychonomic Science*, 15: 229-230.
- Sternberg, W. F. & Ridgway, C. G. (2003). Effects of gestational stress and neonatal handling on pain, analgesia, and stress behavior of adult mice. *Physiology and Behavior*, 78: 375-383.
- Stott, D. N. (1973). Follow-up study from birth of the effects of prenatal stress. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 15: 770-787.
- Suchecki, D. & Palermo, J. (1991). Prenatal stress and emotional response of adult offspring. *Physiology and Behavior*, 49: 423-426.
- Susser, E. S., & Lin, S. P. (1996). Schizophrenia after prenatal exposure to the Dutch Hunger Winter of 1944-1945. *Archives of General Psychiatry*, 49: 983-988.
- Szuran, T. F., Pliska, V., Pokorny, J. & Welzl, H. (2000). Prenatal stress in rats: effects on plasma corticosterone, hippocampal glucocorticoid receptors, and maze performance. *Physiology and Behavior*, 71: 353-362.
- Thompson, W. R. (1957). Influence of prenatal maternal anxiety on emotionality in young rats. *Science*, 15: 698-699.

- Truex, R. C., Carpenter, M. B. & Mosovich, A. (1971). *Neuroanatomía Humana de Strong y Elwyn*. 4a. ed. Argentina: El Ateneo.
- Ursin, H. (1994). Stress, distress and immunity. En: Fabris, N., Markovic, B. M., Spector, N. H. & Jankovic, B.D (Eds.). *Neuroimmunomodulation: The State of the Art. Annals of the New York Academy of Sciences, 741: 204-211.*
- Uylings, H. B. M., Van Eden, C. C., Parnavelas, J. G. & Kalsbeek, A. (1990). The prenatal and postnatal development of rat cerebral cortex. En: Kolb, B. & Tees, R. C. (Eds.). *The Cerebral Cortex of the Rat* (pp.35-76). Massachusetts: MIT.
- van Oers, H. J., de Kloet, E. R. & Levine, S. (1998). Early vs. Late maternal deprivation differentially alters the endocrine and hypothalamic responses to stress. *Developmental Brain Research, 111: 245-252.*
- Wakshlak, A. & Weinstock, M. (1990). Neonatal handling reverses behavioral abnormalities induced in rats by prenatal stress. *Physiology and Behavior, 48: 289-292.*
- Watts, A. G. (2000). Brain and brain regions. En: Fink, G. Ed. *Encyclopedia of Stress* (vol. 1, pp. 342-348). New York: Academic Press.
- Weinstock, M. (1997). Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 21: 1-10.*
- Willner, P. (1993). Animal models of stress: an overview. En: Stanford, S. C. & Salmon, P. (Eds.). *Stress. From Synapse to Syndrome* (pp. 145-165) San Diego: Academic Press.