

01985



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

*PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN PSICOLOGÍA
ÁREA NEUROCIENCIAS DE LA CONDUCTA*

**ESTUDIO CONDUCTUAL Y ELECTROFISIOLÓGICO DEL
DESARROLLO DE DESESPERANZA EN ANIMALES SOMETIDOS
A ESTRÉS INDUCIDO POR UN ESTÍMULO ODRÍFERO**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTORA EN PSICOLOGÍA

P R E S E N T A:

LIC. ANA GLORIA GUTIÉRREZ GARCÍA

Director de Tesis: Dr. Carlos M. Contreras

Comité Tutorial: Dra. María Dolores Rodríguez Ortiz (Tutor interno)

Dr. Ofir Picazo Picazo (Tutor externo)

Dr. Roberto A. Prado Alcalá

Dr. Federico Bermúdez Rattoni

Dr. Miguel Pérez de la Mora

Dr. Víctor M. Alcaraz Romero

MÉXICO, D. F.

ABRIL, 2004



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.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a darme en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo de investigación.
NOMBRE: Ana Blana Gutiérrez García
FECHA: 9/08/07
FIRMA: Gutiérrez García Ana Blana

Este trabajo se desarrolló bajo la **tutoría** del **Dr. Carlos M. Contreras** en el Lab. de Neurofarmacología del Instituto de Neuroetología de la **Universidad Veracruzana** e Instituto de Investigaciones Biomédicas de la **Universidad Nacional Autónoma de México**. Durante el desarrollo de este trabajo AGG-G recibió beca para estudios de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**) con registro 150023 y un apoyo parcial de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (**DGEP**). Asimismo, las pruebas de cromatografía se realizaron con el apoyo de la **Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica (SARA)** de la Universidad Veracruzana bajo la asesoría de la **M. en C. María Remedios Mendoza López**.

JURADO EVALUADOR

Dr. Carlos M. Contreras

(TUTOR PRINCIPAL)

Instituto de Investigaciones Biomédicas,
Universidad Nacional Autónoma de México e
Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana.
Xalapa, Veracruz. México.

Dra. María Dolores Rodríguez Ortiz

(TUTOR INTERNO)

Facultad de Psicología
Universidad Nacional Autónoma de México
México, D.F.

Dr. Ofir Picazo Picazo

(TUTOR EXTERNO)

Escuela Superior de Medicina
Instituto Politécnico Nacional
México, D.F.

Dr. Roberto A. Prado Alcalá

(TUTOR EVALUADOR)

Instituto de Neurobiología, Campus UNAM-UAQ
Universidad Nacional Autónoma de México
Juriquilla, Querétaro. México.

Dr. Federico Bermúdez Rattoni

(TUTOR EVALUADOR)

Instituto de Fisiología, Biofísica y Neurociencias
Universidad Nacional Autónoma de México
México D.F.

Dr. Miguel Pérez de la Mora

(TUTOR EVALUADOR)

Instituto de Fisiología, Biofísica y Neurociencias
Universidad Nacional Autónoma de México
México D.F.

Dr. Víctor M. Alcaraz Romero

(TUTOR EVALUADOR)

Facultad de Psicología
Universidad Veracruzana
Xalapa, Veracruz. México.

RECONOCIMIENTOS

Quiero expresar un profundo agradecimiento a mi profesor y amigo el **Dr. Carlos M. Contreras**, quien inició y fijó el curso de mi trabajo, por todas sus enseñanzas a lo largo de esta carrera, por darme el ejemplo y el espíritu exhaustivo de la investigación y el trabajo constante, por haber influido notablemente en mi formación académica y profesional.

A la **Dra. Ma. Dolores Rodríguez Ortiz** por su paciencia y conocimientos compartidos, por el apoyo brindado durante el desarrollo de este proyecto.

Al **Dr. Ofir Picazo** por su disposición, por la confianza depositada y por compartir su experiencia.

Al **Dr. Roberto Prado Alcalá**, al **Dr. Miguel Pérez de la Mora** y al **Dr. Víctor Manuel Alcaraz** por el tiempo dedicado en la revisión y comentarios de este trabajo, los cuales ayudaron a enriquecer el escrito.

En general al comité tutorial y al jurado evaluador.

A la **Lic. Lucía Peña** y al **Lic. Carlos Durán** por todas las facilidades y disposición para la aclaración de dudas y trámites necesarios durante el doctorado.

*Con cariño y respecto a Gloria García y
Antelmo Gutiérrez, mis padres.*

*A ti, el ser que me ha brindado su amistad y
cariño, aun siendo imposible.*

INDICE

	Pág.
Resumen	
Abstract	
1. Introducción	1
2. Justificación y planteamiento del problema	13
3. Hipótesis	15
4. Objetivos	16
5. Material y método	
5.1. Procedimientos generales	17
5.2. Animales	17
5.3. Estudio conductual	
5.3.1. Pruebas conductuales	
5.3.1.1. Actividad locomotriz en campo abierto	18
5.3.1.2. Prueba de nado forzado	19
5.3.1.3. Modelo de conducta defensiva de enterramiento	21
5.3.2. Análisis de datos	22
5.4. Estudio electrofisiológico	
5.4.1. Electroodos	22
5.4.2. Preparación quirúrgica	23
5.4.3. Pretratamiento	23
5.4.4. Cirugía estereotáxica	25
5.4.5. Registro de la actividad multiunitaria	25
5.4.6. Estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio	27
5.4.7. Estimulación odorífera	27
5.4.8. Control histológico	28
5.4.9. Análisis de datos	29
6. Series experimentales	
6.1. Experimento 1. Estrés psicosocial: efectos ansiogénicos y depresivogénos.	
6.1.1. Antecedentes	30
6.1.2. Experimento 1a	
6.1.2.1. Grupos experimentales	30
6.1.2.2. Procedimiento experimental	31
6.1.2.3. Diagrama de trabajo	32
6.1.3. Experimento 1b	
6.1.3.1. Grupos experimentales y procedimiento	33
6.1.3.2. Diagrama de trabajo	33
6.1.4. Experimento 1c	
6.1.4.1. Grupos experimentales y tratamiento	34
6.1.4.2. Procedimiento experimental	34
6.1.4.3. Diagrama de trabajo	35
6.1.5. Resultados: Experimento 1	
6.1.5.1. Experimento 1a	
6.1.5.1.1. Actividad locomotriz en campo abierto.	36
6.1.5.1.2. Prueba de nado forzado	

6.1.5.1.2.1. Tiempo total de inmovilidad	37
6.1.5.2. Experimento 1b	
6.1.5.2.1. Prueba de enterramiento defensivo ...	38
6.1.5.3. Experimento 1c	
6.1.5.3.1. Prueba de enterramiento defensivo ...	40
6.1.6. Discusión: experimento 1.....	42
6.2. Experimento 2: Efecto de la exposición diaria (10 min, 35 días) de los olores provenientes de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas sobre la inmovilidad en la prueba de nado forzado	
6.2.1. Antecedentes	54
6.2.2. Grupos experimentales y tratamiento	54
6.2.3. Análisis de datos	55
6.2.4. Diagrama de trabajo	56
6.2.5. Resultados	
6.2.5.1. Actividad locomotriz	
6.2.5.1.1. Análisis global de la actividad locomotriz	57
6.2.5.1.2. Análisis intragrupo de la actividad locomotriz durante los 21 días de prueba	59
6.2.5.1.3. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico	59
6.2.5.2. Nado forzado	
6.2.5.2.1. Número de inmovilidades	
6.2.5.2.1.1. Análisis global del número de inmovilidades	62
6.2.5.2.1.2. Análisis intergrupo del número de inmovilidades durante los primeros 21 días de prueba conductual	62
6.2.5.2.1.3. Análisis intragrupo del número de inmovilidades durante los 21 días de prueba	63
6.2.5.2.1.4. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico	65
6.2.5.2.2. Latencia a la primera inmovilidad	
6.2.5.2.2.1. Análisis global de la latencia a la primera inmovilidad	68
6.2.5.2.2.2. Análisis intergrupo de la latencia a la primera inmovilidad durante los primeros 21 días de prueba conductual	68
6.2.5.2.2.3. Análisis intragrupo de la latencia a la primer inmovilidad durante los 21 días de prueba	69
6.2.5.2.2.4. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico	69
6.2.5.2.3. Tiempo total de inmovilidad	

6.2.5.2.3.1. Análisis global del tiempo total de inmovilidad	73
6.2.5.2.3.2. Análisis intergrupo del tiempo total de inmovilidad durante los primeros 21 días de prueba conductual	74
6.2.5.2.3.3. Análisis intragrupo del tiempo total de inmovilidad durante los 21 días de prueba	75
6.2.5.2.3.4. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico	75
6.2.6. Discusión del experimento 2	78
6.3. Experimento 3: Determinación de los efectos de sustancias urinarias volátiles, estresoras, sobre dos estructuras límbicas	
6.3.1. Antecedentes	87
6.3.2. Experimento 3a	
6.3.2.1. Grupos experimentales y procedimiento	89
6.3.2.2. Diagrama de trabajo	90
6.3.3. Experimento 3b	
6.3.3.1. Grupos experimentales y tratamientos	91
6.3.3.2. Diagrama de trabajo	92
6.3.4. Experimento 3c	
6.3.4.1. Procedimiento	93
6.3.5. Resultados	
6.3.5.1. Experimento 3a	95
6.3.5.2. Experimento 3b	101
6.3.5.3. Experimento 3c	103
6.3.6. Discusión del experimento 3	106
7. Conclusiones generales.....	115
8. Modelo teórico	116
9. Bibliografía.....	125
10. Apéndices.....	133

- A) Contreras CM, M Saavedra, JF Rodríguez-Landa, B Bernal-Morales, **AG Gutiérrez-García** (2002). Neuroquímica de la emoción y la motivación. En: Hernández-González M (ed), Motivación Animal y Humana. México: Universidad de Guadalajara y El Manual Moderno, Noviembre, 2000, pp: 39-64. ISBN 968-426-971-4.
- B) **Gutiérrez-García AG**, CM Contreras (2000). El comportamiento sumiso: una estrategia conductual defensiva en los animales y en el humano. Psicología de la Salud 10 (2): 201-213.
- C) Contreras CM, JF Rodríguez-Landa, **AG Gutiérrez-García** (2002). Estrés psicosocial: repercusiones neuronales e implicaciones farmacológicas. En Manzo J (Ed.). Neuroetología: La década del cerebro y la conducta animal. Neuroetología. México: Universidad Veracruzana, Xalapa, pp. 267-281, 2002. ISBN 968-834-588-1.
- D) **Gutiérrez-García AG**, CM Contreras, JF Rodríguez-Landa (2003). Multineuronal activity of lateral septal nucleus decreases simultaneously to immobility in rats forced to swim (en proceso).

- E) **Gutiérrez-García AG**, CM Contreras, JL Díaz-Meza, B Bernal-Morales, JF Rodríguez-Landa, M Saavedra (2003). Intraaccumbens dopaminergic lesion suppresses the effects of desipramine in the forced swim test but not in neuronal activity of lateral septal nucleus. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 27: 809-818.
- F) **Gutiérrez-García AG**, CM Contreras, JL Díaz-Meza (2000). Cómo actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central. *Salud Mental* 23 (2):42-48.
- G) **Gutiérrez-García AG**, CM Contreras (2002). Algunos aspectos etológicos de la comunicación química en ratas y ratones de laboratorio. *Rev Biomédica* 13(2): 189-209.
- H) Evaluación del acicalamiento en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto en animales sometidos a estrés psicosocial y a choques eléctricos en las patas en una caja de comunicación de dos compartimentos.

RESUMEN

Se ha propuesto que la comunicación química en mamíferos, juega un papel importante en las interacciones sociales, incluyendo la conducta sexual, la territorial, la agresiva y la maternal. Así, las sustancias de alarma, las cuales alertan a conespecíficos, son usadas ampliamente en el reino animal para proteger a la especie. Sin embargo, se desconoce en que medida estas quimioseñales podrían constituir un estresor "natural" lo suficientemente relevante como para inducir cambios en la motivación de aquellos conespecíficos expuestos a dichos olores. El propósito general de esta serie de experimentos fue explorar si los olores de un animal estresado pudieran generar cambios conductuales en conespecíficos expuestos a dichos olores. El primer objetivo fue explorar si una sesión de estrés psicosocial, el cual consistió en someter a una rata a las reacciones emocionales emitidas por otra rata sometida a choques eléctricos en las patas, podía modificar la inmovilidad desplegada por los animales expuestos a la prueba de nado forzado, un modelo para el estudio experimental de la depresión. Con el fin de determinar si los cambios observados en la prueba de nado se pudieran deber a ansiedad, utilizamos la prueba de enterramiento defensivo, un modelo animal para el estudio experimental de la ansiedad. El segundo objetivo fue determinar si durante esa situación de estrés, el olor emanado de ratas estresadas podría a largo plazo desencadenar el desarrollo de desesperanza en animales expuestos a dichos olores y determinar si esta desesperanza podría ser revertida por el antidepresivo imipramina, utilizando el modelo de nado forzado para evaluar las posibles acciones antidepresivas del fármaco. Asimismo, intentamos determinar si estos olores eran capaces de generar cambios en dos estructuras límbicas relacionadas con la ansiedad y la depresión, la amígdala basolateral y el núcleo septal lateral respectivamente, utilizando la técnica de registro multineuronal. Los experimentos arrojaron los siguientes resultados. Una sesión de estrés psicosocial modifica la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado, determinada por un decremento de la inmovilidad. Esta respuesta parece asociarse a un efecto ansiogénico generado al ser espectador de una situación estresante aplicada a un compañero, lo cual se determinó a través de la prueba de enterramiento defensivo y su reversión con diazepam (1 mg/Kg). Consideramos que los olores emitidos por conespecíficos sometidos a estrés por choques eléctricos en las patas (estrés físico) están implicados en los cambios conductuales observados en los animales que presenciaron dicho estrés (grupo testigo-presencial). En el segundo experimento demostramos que los olores emanados por animales sometidos a choques eléctricos en las patas pueden desencadenar el desarrollo de desesperanza en conespecíficos expuestos crónicamente al olor y esta desesperanza fue revertida por un antidepresivo, aunque el grupo sometido a ese tipo de estrés psicosocial requirió de una dosis mayor de imipramina (5.0 mg/Kg, i.p) para desplegar los efectos anti-inmovilidad del tricíclico. En otro experimento, determinamos que solo aquellos animales que son expuestos a una situación aversiva (choques eléctricos en las patas) asociada a una sustancia odorífera (2-heptanona), muestran un incremento de la actividad multineuronal de la amígdala basolateral y del núcleo septal lateral cuando son reexpuestos al olor, entonces observamos que, la orina parece funcionar como un estímulo condicionado capaz de desencadenar cambios electrofisiológicos al menos en la amígdala basolateral, cuya participación en la ansiedad ya ha sido determinada. En conclusión, es posible que exista una relación entre la ansiedad y la depresión en el modelo empleado en este proyecto, dado que al parecer la ansiedad desplegada en una sola sesión de estrés psicosocial quizá esté mediada por una señal química presente en la orina de los animales que sufrieron el estrés por choques eléctricos en las patas, ya que la orina recabada de estos animales puede funcionar como un estímulo condicionado para evocar respuestas en algunas estructuras del sistema límbico, como la amígdala basolateral. Una de las sustancias identificadas en la orina de los animales estresados fue una cetona volátil de 7 carbonos, la 2-heptanona, la cual pudiera estar potenciando la respuesta de alarma observada en los animales testigos-presenciales sometidos a estrés psicosocial. Luego entonces, la ansiedad que se genera cuando los individuos enfrentan una situación potencialmente peligrosa, podría ser un mecanismo de alerta o de alarma, mediado por una comunicación emocional intraespecífica eficaz e inmediata. Además, el incremento gradual de la inmovilidad en los animales que fueron sometidos a la exposición del olor de la orina de conespecíficos estresados, parece constituir un estímulo odorífero "natural" lo suficientemente relevante como para inducir desesperanza. Este paradigma podría ser empleado como un nuevo modelo para aproximarnos al estudio experimental de la ansiedad y la depresión como un proceso continuo, basándose en un estresor natural al que muchas especies de animales se enfrentan de manera cotidiana.

ABSTRACT

Since it is known that substances of alarm to alert conspecifics are widely used in the animal kingdom to protect the species, it has been proposed that chemical communication in mammals plays an important role in social interactions, including sexual, territorial and maternal behaviors. However, it is unknown to what extent these chemical signals could constitute a "natural" stressor sufficiently relevant to induce changes in the motivation of those conspecifics exposed to such odorous substances. Therefore, this series of experiments was conducted to explore whether the scent from a stressed animal could cause behavioral changes in conspecifics exposed to said odors. The first objective was to explore whether a session of psychosocial stress might modify the immobility displayed by animals exposed to the forced swimming test, a model for the experimental study of depression. In order to determine whether the changes observed in the forced swimming test might be due to anxiety, we used the burying behavior test, an animal model for the experimental study of anxiety. The second objective was to determine whether the odor proceeding from stressed rats in that situation could cause despair to develop in conspecifics under long-term exposure there to, and to determine whether such despair could be reverted by injecting them with the antidepressant imipramine and subjecting them to the forced swimming model to evaluate the possible antidepressant actions of the drug. Likewise, we attempted to determine whether said odors might cause changes in two limbic structures associated with anxiety and depression: the basolateral amygdala and the lateral septal nucleus, respectively, by using the multineuronal recording technique. The experiments provided the following results. A session of psychosocial stress decreases immobility behavior in the forced swimming test. This response seems to be associated with an anxiogenic effect caused by witnessing a stressful situation applied to a companion; this was determined through the defensive burying test and its reversion with diazepam (1mg/Kg). We consider that the odor proceeding from conspecifics submitted to stress by electric shocks to the paws (physical stress) are involved in the behavioral changes observed in the animals witnessing such psychosocial stress. In the second experiment, we demonstrated that the odors proceeding from the animals submitted to electric shocks to the paws may lead to the development of despair in conspecifics chronically exposed to the odor and that this despair is reverted by an antidepressant, although the group submitted to psychosocial stress requires a higher dose of imipramine (5.0 mg/Kg i.p.) to display the effect. In another experiment, we determined that only those animals that are exposed to an aversive situation (electric shocks to the paws), which is associated with an odoriferous substance (2-heptanone), show an increase in the multineuronal activity of the basolateral amygdala and the lateral septal nucleus when they are re-exposed to the same odor. Under such circumstances, urine seems to function as a conditioning stimulus able to cause electrophysiological changes in at least the basolateral amygdala, whose participation in anxiety has already been demonstrated. In conclusion, there may be a relationship between anxiety and depression in the model of psychosocial stress, given that seemingly the anxiety displayed in only one session of psychosocial stress is mediated by a chemical signal present in the urine of the animals thus exposed, which may function as a conditioning stimulus to evoke responses in some structures of the limbic system, like the basolateral amygdala. One of the substances identified in the urine of the stressed animals was precisely 2-heptanone, which might reinforced the response of alarm observed in animal witnesses. Therefore, the anxiety that appears when individuals face a potentially dangerous situation might be a mechanism of alert, mediated by an effective and immediate intra-specific emotional communication. In addition, the gradual increase of immobility in the animals exposed to the odor from stressed conspecifics seems to constitute a "natural" odoriferous stimulus strong enough to induce despair. This paradigm might be employed as a new model to approach the experimental study of anxiety and depression as a continuous process relying on the use of a natural stressor to which many species are exposed daily.

1. INTRODUCCIÓN

Los trastornos del estado de ánimo, constituyen parte de los desórdenes psiquiátricos más frecuentes y a menudo invalidantes que conllevan el riesgo principal del suicidio. Así, la depresión es un trastorno que afectan a millones de personas en todo el mundo y de acuerdo con algunos reportes estadísticos, se estima que el 14 % de la población general ha sufrido por lo menos un episodio de depresión mayor y cerca del 35% algún desorden afectivo, incluyendo la distimia, la depresión menor o la depresión recurrente (Angst, 1995). En México, el 12% de la población del Distrito Federal padece de trastorno depresivo (Caraveo-Anduanga et al., 1999), lo que convierte a esta enfermedad en un problema de Salud Pública.

En el Manual Diagnóstico y Estadístico de las Enfermedades Mentales (American Psychiatric Association, 1994) la depresión es considerada como un desorden afectivo que se caracteriza por un abatimiento generalizado del comportamiento y anhedonia (pérdida de la capacidad para experimentar placer). Algunos autores suelen clasificar a la depresión en endógena u orgánica cuando los síntomas son independientes de factores externos, es decir, no es reconocible un factor precipitante que explique la sintomatología patológica que se está presentando en la persona que la sufre; mientras que se habla de exógena o reactiva, cuando la depresión constituye una respuesta a situaciones ambientales estresantes (Calderón-Narváez, 1985), generalmente de tipo psicosocial, como puede ser la muerte de un ser querido, haber sido asaltado, haberse divorciado o separado (Kendler, 1999). Así, las alteraciones básicas encontradas en un paciente deprimido son las afectivas (tristeza, anhedonia, irritabilidad), las cognoscitivas (dificultad para concentrarse, pesimismo, ideas de minusvalía, culpa, indecisión e ideación suicida) y las psicofisiológicas (trastornos del sueño y del apetito, disminución de la energía y del deseo sexual), las cuales promueven la pérdida del interés por si mismo y por la vida (Gutiérrez-García y Contreras, 2000). La depresión suele asociarse hasta un 20 a 25 % con otras enfermedades como la diabetes, infarto al miocardio, carcinomas, accidentes cerebrovasculares y con algunos padecimientos neurológicos de tipo degenerativo como la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple (Uriarte, 1992; Contreras et al., 2003).

A la depresión se le conoce desde tiempo inmemorial y la interpretación de las causas que la ocasionan ha variado a lo largo del tiempo, hasta nuestros días, en que se le concibe como la

consecuencia de múltiples alteraciones en el funcionamiento del sistema nervioso central, considerándola como un trastorno biológicamente heterogéneo del cual se desconocen diversos aspectos de su fisiopatología (Duman et al., 1997; Contreras et al., 2002, **apéndice A**). El estudio de la depresión es en cierta forma limitado, dado que el acceso al paciente deprimido reviste dificultades de tipo ético y limitaciones en las maniobras experimentales. Por ello, se hace necesario utilizar modelos en animales de laboratorio, que aun cuando son aproximaciones burdas al padecimiento del ser humano, nos permiten abordar el estudio de los procesos fisiopatológicos involucrados en los trastornos afectivos y de las acciones neurobiológicas que ejercen las terapias antidepresivas (Porsolt et al., 1991).

De esta manera, se ha podido determinar que los eventos aversivos de la vida pueden contribuir a la expresión o exacerbación de una variedad de desórdenes psicopatológicos incluyendo la ansiedad y la depresión (Anisman y Zacharko, 1982). Así, en estudios recientes se ha sugerido una relación causal del 60 al 75% entre los acontecimientos estresantes continuos y el inicio de la depresión, siendo las pérdidas los sucesos que más precipitan la depresión (Kendler, 1999). En consistencia, se ha demostrado que la exposición al estrés repetitivo e incontrolable en animales de laboratorio puede provocar alteraciones conductuales y fisiológicas que remedan el cuadro depresivo en el humano (Zacharko y Anisman, 1991). Luego entonces, los modelos animales son manipulaciones experimentales, que intentan remedar algunas características de un padecimiento en particular que aqueja al ser humano. Su utilidad reside en que pueden detectar el potencial terapéutico de algunas drogas además de proporcionar datos relevantes sobre las acciones de fármacos diversos y constituyen una herramienta en la determinación de los substratos neurobiológicos de los desórdenes que representan. Los modelos animales para el estudio experimental de la depresión cumplen con varios criterios de validez predictiva, de apariencia y de constructo, que los hace ser sensibles y selectivos para el estudio del desorden afectivo (Wilner, 1994).

En los modelos animales de depresión, los roedores son sometidos a eventos estresantes físicos, químicos o quirúrgicos con el propósito de generar respuestas bioquímicas y conductuales semejantes a las desarrolladas por los individuos deprimidos, es decir, la desesperanza (Porsolt et al., 1991). De manera general, la gran mayoría de estos modelos y los más utilizados en la actualidad para evaluar el potencial de diversos fármacos antidepresivos, remedan la depresión exógena o reactiva en la medida en que son los factores ambientales los que desencadenan los cambios conductuales y fisiopatológicos sugerentes de depresión. Así, existen variados modelos animales para el estudio experimental de la depresión cuyo

objetivo es inducir un estado de desesperanza al emplear estímulos estresores físicos como los choques eléctricos inescapables en las patas (Seligman y Maier, 1967), la suspensión del rabo (Sture et al., 1985), el nado forzado (Porsolt et al., 1977) y muchos otros.

Sin embargo, la mayoría de estos modelos emplean estresores que conducirán a esquemas conductuales semejantes a la depresión, pero que son ajenos a la cotidianidad del animal de laboratorio y se produce un cambio conductual ligado a una manipulación experimental extraña (suspensión por el rabo, nado forzado, choques eléctricos en las patas, cambios extremos de temperatura, entre otros). En una aproximación más naturalista a los efectos del estrés, se han diseñado modelos que semejan las condiciones sociales en las que viven los sujetos vulnerables, al emplear estímulos más naturales y cotidianos en la vida de los animales, con la finalidad de estudiar así, las estrategias conductuales que se emiten en una interacción social de conflicto (Contreras et al., 2002), entendiendo por conflicto toda aquella tensión o abierto enfrentamiento entre dos o más individuos que disputan, por recursos escasos o por el estatus jerárquico grupal (Ferreira y Picazo, 2002), por mencionar algunos. Los hallazgos han permitido proponer que el estrés psicosocial constituye uno de los factores que predisponen al individuo a desarrollar trastornos del estado de ánimo (ver revisión de Gutiérrez-García y Contreras, 2000, **apéndice B**).

Hasta el momento, en los modelos animales de estrés psicosocial, se ha enfatizado que la comunicación emocional que se establece en una situación de conflicto que implica la relación entre dos o más individuos, constituye un factor patogénico importante en el desarrollo de diversos cambios conductuales asociados a situaciones de estrés social. El método de comunicación desarrollado por Ogawa y Kuwahara (1966) parece ser un modelo apropiado para estudiar los cambios conductuales y fisiológicos que se desencadenan bajo situaciones de estrés psicosocial, basándose en una comunicación emocional intraespecie sin la participación de un estresor físico directo. Por ejemplo, un ratón que no recibe choques eléctricos en las patas puede desarrollar úlceras gástricas cuando presencia las respuestas de otro ratón estresado por choques eléctricos en las patas. Estas respuestas, involucran diferentes sistemas sensoriales, por ejemplo, el auditivo mediante las vocalizaciones; el olfativo mediante la micción; e incluso el visual, al presenciar los saltos y el esfuerzo por escapar desplegado por su compañero. Por tanto, las lesiones estomacales y otras alteraciones conductuales pueden ser provocadas por una comunicación afectiva (Ishikawa et al., 1992). Sin embargo, existe poca información disponible sobre las bases funcionales de este fenómeno y no se ha abordado la posibilidad de que durante este tipo de estrés

psicosocial, los animales que presencian la manifestación de dolor de otro compañero, despliegan cambios en sus sistemas motivacionales, los cuales les impidan por ejemplo, buscar una salida ante una situación de apremio como ocurre con otros modelos animales para el estudio experimental de la depresión (ver revisión Gutiérrez-García y Contreras, 2000; Contreras et al., 2002, **apéndice B y C**). Por ejemplo, en el modelo de desesperanza aprendida los animales (ratas, ratones o perros) son sometidos de manera inescapables a choques eléctricos en las patas durante una primera sesión, de tal forma que aprenden que esa situación de apremio carece de solución y desarrollan al poco tiempo un síndrome caracterizado por quietud y abatimiento (Seligman y Maier, 1967; Overmier, 2002), de tal forma que cuando son colocados veinticuatro horas después a la misma situación excepto en que pueden escapar, se encuentran déficits en el aprendizaje para escapar de la contingencia.

Hace tiempo, Seligman (1975) propuso que en estos animales al igual que en el ser humano, la exposición a eventos aversivos de los cuales se carece de control, ocasiona una pérdida de la motivación para dar una respuesta adecuada, déficits cognoscitivos que interfieren con un nuevo aprendizaje y un abatimiento tanto motor como emocional iniciado por ansiedad y ante la exposición estresante de manera prolongada, un estado de desesperanza. Luego entonces, el término desesperanza involucra un estado que se produce frecuentemente cuando los acontecimientos se vuelven incontrolables. Se entiende que un acontecimiento es incontrolable, cuando no se puede hacer nada por cambiarlo, cuando se haga lo que se haga, siempre ocurrirá lo mismo. Es la sensación de que la propia vida está en peligro y no hay nada que hacer para escapar a ello. Estudios realizados por Weiss en 1971, indicaron que cuando a una rata no se le da la oportunidad de emitir estrategias conductuales para evitar o escapar de un estímulo aversivo, como una descarga eléctrica, ésta desarrolla a largo plazo cambios conductuales y neuroquímicos inducidos por el estrés incontrolable.

En otros modelos experimentales de estrés psicosocial se somete a los animales a una relación social de conflicto a corto plazo basada en relaciones dominante-subordinado. En el animal que resulta derrotado durante la contienda ocurre una hiperactividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que se relaciona con incremento del cortisol urinario e hipertrofia de las glándulas adrenales, lo que es sugerente de un estado ansioso agudo (Isovich et al., 2000). Todo ello se acompaña de niveles bajos de actividad locomotriz y disminución del peso corporal, lo que podría ser parte de la desesperanza. Si la situación de sumisión forzada se prolonga, las ratas pueden llegar a desplegar un abatimiento conductual generalizado,

caracterizado por falta de reactividad a la estimulación y abandono de todo intento de sobrevivencia, al grado de permanecer inmóviles en una de las esquinas de la caja de prueba y con la nariz enterrada en el aserrín (Kudryavtseva et al., 1991). Con estos modelos de estrés psicosocial, se puede determinar un continuo entre la ansiedad y la depresión, dos estados emocionales complejos que conllevan alteraciones cognitivas, afectivas y fisiológicas, por lo que causan un deterioro considerable de la salud. Se ha referido que la ansiedad parece ser la antesala para desarrollar un futuro episodio depresivo. Es decir, los trastornos depresivos serían un *continuum* de un trastorno de ansiedad no tratado o tratado insuficientemente (Heinze, 2003). Aunque se reconoce que la ansiedad y la depresión son entidades nosológicas diferentes y que se pueden presentar de manera independiente, con frecuencia un alto porcentaje de individuos padecen los dos tipos de desórdenes como ocurre en la depresión mayor combinada ya sea con el desorden de pánico, el desorden obsesivo-compulsivo o con el trastorno por ansiedad. De esta manera, es factible pensar que la ansiedad y la depresión al menos parcialmente comparten su etiología y que de acuerdo a estos modelos animales, bien pudiera estar determinada por contingencias extraordinarias y acontecimientos incontrolables de tipo psicosocial.

Otro modelo, lo constituye la prueba de nado forzado, que aun cuando ha sido empleada para evaluar fármacos con propiedades antidepresivas, existen suficientes argumentos para asegurar que la prueba de nado induce un estado de desesperanza generado por la aplicación de un evento estresante e inescapable. De acuerdo con los autores de este modelo (Porsolt et al., 1977; Porsolt et al., 1991), durante la pre-prueba los animales aprenden que el escape es imposible y dejan de luchar. La consecuencia es un estado de desesperanza semejante al desarrollado por humanos sometidos a estrés continuo, por lo que la prueba ha sido propuesta como un modelo para el estudio experimental de la depresión. Recientemente, en un intento de correlacionar ciertas pautas conductuales con la actividad cerebral, hemos podido identificar las variaciones de la actividad neuronal del núcleo septal lateral con la desesperanza evaluada mediante la inmovilidad en la prueba de nado forzado. Encontramos que existe una correlación significativa entre el decremento de la actividad multineuronal de esta estructura con el aumento de los periodos de inmovilidad ($r=0.821$, $p<0.0003$); asimismo, los periodos de inmovilidad mayores a 3 segundos se encuentran correlacionados significativamente ($p<0.05$) con el decremento de la actividad multiunitaria del septum. Estos resultados sugieren que el decremento de la actividad neuronal de esta estructura cerebral, la cual ha sido relacionada con la ansiedad y la depresión ocurre simultáneamente con la inmovilidad en la prueba de nado forzado. Lo anterior sugiere que el incremento de la tasa de disparo del septum podría

estar relacionada con el aumento de la motivación del animal por escapar de la situación de apremio que el nado forzado representa, efecto producido por diversos fármacos antidepresivos (Contreras et al., 1989), en tanto que la disminución de la tasa de disparo se podría relacionar con la desesperanza (Gutiérrez-García et al., 2003a, **apéndice D**). Si bien, se observa un abatimiento de la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral ante situaciones de estrés, es posible que otras estructuras relacionadas con la expresión de la conducta motivada también estén implicadas. En consistencia, la lesión del núcleo accumbens cancela las acciones conductuales de la desmetilimipramina en la prueba de nado forzado, pero no bloquea el efecto del tricíclico sobre la tasa de disparo del núcleo septal lateral, lo que sugiere que estructuras límbicas como el núcleo septal lateral, la amígdala y el hipocampo, por mencionar solo algunas, requieren de una estructura como el núcleo accumbens, para integrar y posteriormente enviar la información hacia sistemas integradores de la región motora mesencefálica, implicados en la expresión motora de la motivación (Gutiérrez-García et al., 2003b, **apéndice E**).

En adición, este modelo parece ser sensible para detectar los cambios conductuales y neuroquímicos inducidos por estímulos estresantes aplicados previamente a la prueba. En este sentido, Borsini y colaboradores (1989) demostraron que la sesión de pre-prueba es necesaria para el desarrollo de la inmovilidad en una sesión subsecuente y para que los fármacos antidepresivos puedan inducir sus efectos anti-inmovilidad. La pre-prueba puede ser sustituida por la aplicación de otros estresores que producen el mismo efecto en cuanto a la inmovilidad, tales como cambios en la temperatura ambiente o en el fotoperiodo, restricción de espacio y privación del alimento, entre otros. Sin embargo, Abel y Bilitzke (1990), reportaron que la inmovilidad en la prueba de nado forzado puede ser reducida con la aplicación previa de un estresor como los choques eléctricos en las patas y este decremento podría deberse a ansiedad.

La ansiedad es un mecanismo de adaptación (Uriarte, 1992). Cuando el hombre o animal agrede, se defiende o huye, despliega una amplia variedad de cambios corporales y psíquicos que lo adaptan para la pelea o la fuga; dentro de los principales están: incremento de la presión arterial, vasodilatación muscular, vasoconstricción periférica, aumento de la glucosa en sangre por la secreción de adrenalina y cortisol, incremento del estado de alerta y de la tensión muscular, dilatación pupilar, secreción de endorfinas que favorecen la analgesia, sequedad de boca, incremento en el peristaltismo y de la tensión vesical, entre otros cambios.

La ansiedad es producto de la activación del sistema límbico, que favorece las respuestas de sobrevivencia como es un incremento en el estado de alerta y una mayor capacidad de reacción hacia los estímulos, mejorando su habilidad para responder física y psíquicamente (Hommer et al., 1987). Luego entonces, la ansiedad (lat. *angere*= sofoco o ahogo) se puede definir como un estado no placentero, caracterizado por intranquilidad, expectación aprensiva y aumento en la vigilancia, en la que se desencadenan una serie de reacciones vegetativas como sudoración, taquicardia, tensión muscular, insomnio y temblor, entre otras (American Psychiatric Association, 1994). En general la ansiedad desaparece una vez terminado el estímulo que la provocó; sin embargo, en algunos individuos la ansiedad persiste por largo tiempo. Así, la ansiedad excesiva o sostenida se considera patológica y en la actualidad es el desorden mental más común y su frecuencia aparentemente está en aumento sobre todo en las grandes ciudades donde el nivel de estrés es mayor.

Existen variados modelos animales para el estudio experimental de la ansiedad, muchos de los cuales se han derivado de experimentos de aprendizaje asociativo (Picazo y Roldán, 1996). Los modelos que se han propuesto para el estudio de la ansiedad se han dividido en dos grandes grupos: los modelos que utilizan estímulos aversivos no naturales, por ejemplo un choque eléctrico en las patas el cual se asocia con un patrón conductual innato como la ingesta de agua o alimento y a aquellos que utilizan estímulos aversivos naturales tales como lo son los espacios abiertos, la luminosidad intensa, la presencia de compañeros desconocidos, los olores desagradables, entre otros (Treit, 1985). Las reacciones de ansiedad desplegadas por los animales en estos modelos, pueden ser cuantificables y proporcionan así información acerca de los niveles de ansiedad alcanzados por el animal, así como de la respuesta ante el tratamiento ansiolítico.

Debido a la ventaja que confiere utilizar el repertorio conductual de cada especie sin la intervención de manipulaciones instrumentales de larga duración, para la presente investigación se utilizó el modelo de enterramiento defensivo. El modelo de la conducta defensiva de enterramiento explora una conducta innata de los roedores, la cual surge cuando éstos se enfrentan a un objeto peligroso o a algún tipo de estímulo aversivo. En este modelo, los animales se introducen en una caja de acrílico, cuyo piso está cubierto por una capa de viruta. Una de las paredes de la caja tiene adherido un electrodo que permite aplicar choques eléctricos de manera constante y de baja intensidad (0.3 mA). Cuando los animales son colocados en la

caja, la exploran e incidentalmente reciben uno o más choques, e inmediatamente después entierran la barra electrificada con el aserrín. El enterramiento defensivo desplegado por las ratas consiste en movimientos de las extremidades anteriores y en ocasiones posteriores, y de la nariz, destinados a empujar la viruta sobre o cerca de la fuente del estímulo eléctrico, al cual perciben como aversivo y potencialmente peligroso (de Boer et al., 1991). Generalmente, la secuencia conductual que las ratas emiten después de tocar el electrodo electrificado consiste en sobresalto y retirada hacia el extremo de la caja de prueba; inicialmente se puede observar una secuencia de congelamiento/exploración seguido por movimientos de retirada y aproximación hacia el electrodo, que culmina finalmente en el completo o parcial enterramiento de la barra electrificada. La frecuencia y el tiempo invertido en esta secuencia conductual defensiva parece estar en función de variables propias del organismo, es decir, del estilo de afrontamiento individual hacia estímulos del ambiente, a las restricciones ambientales, a la disponibilidad del material de enterramiento (viruta) y las posibilidades de escape o el miedo experimentado ante una situación particular (de Boer et al., 1991). Así, el tiempo invertido en el enterramiento es indicativo de los niveles de ansiedad (Treit, 1985) en tanto que la latencia al enterramiento revela la reactividad de los animales.

Si en el presente estudio encontráramos que el estrés psicosocial producido por el sólo hecho de presenciar el castigo inducido a un compañero y ser así sometido a las respuestas emocionales que despliega el sujeto estresado, es suficiente para reducir la inmovilidad en la prueba de nado forzado, representaría una paradoja indicativa de que el someter a los animales a esta situación de estrés previo al nado, no produce desesperanza, en cambio es sugerente de inducir un estado ansioso. Es decir, el estrés psicosocial promovería un incremento de la ansiedad. Ishikawa y colaboradores (1992) determinaron que el estrés psicosocial inducido por medio del método de Ogawa y Kuwahara (1966) provoca un incremento de los niveles de corticosterona en plasma y úlceras gástricas en aquellos animales que son espectadores de la estimulación aversiva aplicada a su compañero. Sin embargo, desconocemos en nuestro estudio, cuales serían las modificaciones en la inmovilidad en la prueba de nado forzado y si ésta estaría relacionada con la ansiedad y tampoco conocemos la posibilidad de que esta ansiedad esté asociada con algún tipo de comunicación intraespecie (olfativa y auditiva) que se haya establecido en la situación de estrés psicosocial a la que fueron sometidos nuestros animales, en cuyo caso, los cambios conductuales asociados a la ansiedad, tendrían que ser disminuidos con un ansiolítico.

De manera particular, el modelo de enterramiento defensivo ha sido ampliamente utilizado para el discernimiento de fármacos con propiedades ansiolíticas. Treit y colaboradores (1982) determinaron que la ansiedad desplegada por las ratas ante un estímulo aversivo (barra electrificada) puede reducirse por la administración de diazepam (1mg/Kg), mientras que la picrotoxina puede antagonizar dicho efecto. Así, un ansiolítico óptimo es aquel que reduce el tiempo total de enterramiento sin modificar la latencia o reactividad del animal, un efecto obtenido con dosis de 1-2 mg/Kg de diazepam (Treit et al., 1982). Lo cual sugiere que las benzodiazepinas podrían ejercer sus efectos ansiolíticos en este modelo al interactuar con mecanismos GABAérgicos.

En particular, en relación con la ansiedad, la hipótesis de la participación del ácido γ -aminobutírico (GABA) el principal neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso de los mamíferos, está fundamentada por el hecho de que el sitio de reconocimiento a las benzodiazepinas está físicamente asociado al receptor GABA_A. Este receptor se encuentra en la membrana postsináptica, es de tipo ionotrópico por pertenecer a la familia de los canales unidos a iones específicos y está conformado por subunidades de glicoproteínas (α 1-6; β 1-4; γ 1-4 y δ) acopladas a un canal selectivo al ion cloro. Tiene por lo menos tres sitios de reconocimiento: uno para el GABA, otro para las benzodiazepinas y el tercero para los barbitúricos que al ser estimulados por sus agonistas modulan al receptor GABA_A (Lambert et al., 1995). La progesterona y algunos de sus metabolitos funcionan también como moduladores positivos al aumentar la afinidad del receptor por el GABA, con lo que se incrementa la frecuencia y la duración de la apertura del canal de cloro acoplado al receptor GABAérgico (Majewska, 1992), por ello a la progesterona y a sus metabolitos se les han atribuido propiedades ansiolíticas (ver revisión Gutiérrez-García et al., 2000, **apéndice F**). Mediante técnicas de registro intracelular se ha demostrado que las benzodiazepinas aumentan la conductancia al cloro, estimulada por GABA, como consecuencia del incremento en la frecuencia de apertura del canal de Cl⁻. Esto induce un estado prolongado de hiperpolarización membranal, así como aumento de la inhibición neuronal en aquellas estructuras que poseen receptores GABAérgicos (Lambert et al., 1995). Tomando en cuenta esta información, la hipótesis GABAérgica de la ansiedad plantea que ésta se debe a una transmisión GABAérgica disminuida, que es revertida mediante el tratamiento con benzodiazepinas. Estos efectos también pueden ser bloqueados por la administración de un antagonista GABAérgico inespecífico, como la picrotoxina.

Llama la atención el hecho de que a pesar de que se ha demostrado que el estrés psicosocial puede inducir ansiedad y desesperanza en ratas y ratones de laboratorio e incluso en otros roedores como

los hámsteres (Fuchs et al., 1996), no se ha abordado aún la posibilidad de que este estado sea inducido por un estímulo odorífero ligado a la situación de estrés psicosocial, a pesar de reconocerse que la comunicación química en roedores, es fundamental para las relaciones intraespecíficas (Novotny et al., 1985). Conviene mencionar algunos conceptos que se han elaborado en relación con las estructuras y niveles implicados en la organización de las reacciones emocionales relacionadas con el olfato. Tanto el área septal como el núcleo amigdalino, pertenecen al sistema límbico el cual recibe aferencias olfatorias que al parecer están íntimamente relacionadas con aquellas funciones emocionales asociadas a la olfacción. Efectivamente, se ha demostrado que el área septal es una de las "zonas de placer" del cerebro de las ratas y al parecer, esta estructura se encuentra implicada en el desorden afectivo, cuyo síntoma cardinal es la pérdida de la capacidad para experimentar placer; mientras que el núcleo basolateral de la amígdala participa en respuestas condicionadas de tipo emocional, asociadas a castigo y en la consolidación de la memoria asociada a eventos aversivos. En un modelo propuesto por Sheehan y Numan (2000) se propone que el núcleo septal lateral está involucrado en el comportamiento social modulado por feromonas a través de una vía anatómica que involucra al bulbo olfatorio accesorio y al órgano vomeronasal hacia el núcleo amigdalino. Esta primera entrada sensorial olfatoria envía información hacia el área septal, la cual estaría enviando a su vez proyecciones hacia otras estructuras como el hipocampo y el hipotálamo, así como hacia el tallo cerebral. Basándose en esta anatomía, Sheehan y Numan proponen que las proyecciones del núcleo septal lateral hacia las principales regiones hipotalámicas podrían estar involucradas en la regulación de varios comportamientos sociales. Por ejemplo, el núcleo septal lateral recibe proyecciones provenientes del área preóptica medial y del núcleo hipotalámico anterior. El área preóptica medial ha sido involucrada en la conducta sexual y maternal; mientras que el área hipotalámica anterior en la agresión. En muchas especies de mamíferos el sistema olfatorio principal y el vomeronasal son importantes para mediar las respuestas sociales, por lo que el núcleo septal forma un circuito anatomofuncional con la amígdala y el hipocampo, los cuales juegan un papel importante en los procesos de memoria y ansiedad. Por tanto, el núcleo septal y la amígdala podrían estar relacionados con la regulación de los procesos de memoria en situaciones sociales moduladas por feromonas (Sheehan y Numan, 2000), de modo que, no sería extraño que numerosas pautas conductuales fueran moduladas por diversas sustancias odoríferas, en una forma de comunicación intraespecífica que de lugar a diversos procesos emocionales, incluyendo los afectivos.

En la rata, el sistema olfativo tiene gran relevancia, de hecho el sólo bulbo olfatorio representa el 10% de su sistema nervioso central y su peso corresponde a alrededor del 4% del peso total del cerebro (Richardson, 1991). Desde hace tiempo se denominó *rinencéfalo* a una serie de estructuras de la corteza del lóbulo temporal y de algunos núcleos subyacentes que reciben aferencias provenientes del sistema olfatorio y el cual se encuentra modulando una gran cantidad de pautas conductuales por ejemplo, el apareamiento, la inhibición o el desencadenamiento del comportamiento agresivo, la identificación entre grupos y entre individuos, la organización social, el marcaje territorial, el miedo y muchas otras conductas sociales (ver revisión de Gutiérrez-García y Contreras, 2002, **apéndice G**). De ser este el caso, se esperarían variaciones conductuales de la actividad neuronal de estructuras límbicas en ratas que son sometidas a sustancias quizás alarmógenas secretadas por conespecíficos que hayan pasado previamente por una situación estresante. Se desconoce si estas sustancias odoríferas pudieran ser inductoras de desesperanza en aquellos animales expuestos a dichos olores.

Concluyendo, los modelos animales usados para esta tesis fueron la prueba de nado forzado, como modelo de depresión y la prueba de enterramiento defensivo, como modelo de ansiedad. Estos modelos fueron seleccionados para la investigación tomando en cuenta las siguientes ventajas: a) son selectivos para fármacos antidepresivos y ansiolíticos, respectivamente, por lo que cumplen con el criterio de validez predictiva, la cual indica que el modelo debe ser capaz de detectar fármacos con acciones antidepresivas o ansiolíticas; b) son modelos que no requieren del entrenamiento de los animales; c) son económicos y d) los resultados obtenidos pueden ser replicados fácilmente por distintos observadores. Por otro lado, empleamos un modelo de estrés psicosocial como inductor de ansiedad o desesperanza con la finalidad de cumplir con los criterios de apariencia y de constructo, los cuales hacen referencia a la fidelidad con la que el modelo debe remedar los síntomas más representativos del desorden y de las bases teóricas que lo subyacen, por ejemplo, el someter a los animales a un procedimiento de estrés crónico produce desesperanza, lo cual puede ser comparable con los eventos estresantes de la vida diaria que en muchos casos forman parte de la etiología de la depresión en individuos susceptibles. Con el modelo de estrés psicosocial utilizado en el presente estudio se intentó semejar las condiciones sociales en las que viven los sujetos vulnerables, ya que se emplearon estímulos que, siendo desencadenantes de desesperanza, ocurrieran de manera más natural y cotidiana en la vida de los individuos, abordando así las estrategias conductuales que se emiten en una interacción social de conflicto.

Asimismo, las técnicas electrofisiológicas para el estudio del sistema nervioso central han permitido el registro de la actividad neuronal en animales en libre movimiento o bien bajo el efecto de algún anestésico. Existen diferentes técnicas de registro neuronal como lo es el registro electroencefalográfico, el registro intracelular, el registro unicelular y el registro multiunitario, por mencionar algunos. En el presente estudio empleamos la técnica electrofisiológica de registro de la actividad multineuronal, técnica útil para caracterizar el patrón de la actividad neuronal de diversas estructuras cerebrales (Pinel, 2001). Las aplicaciones de esta técnica han sido diversas, desde el estudio de los potenciales que revelan excitabilidad neuronal hasta el estudio de patrones de descarga neuronal en relación con diversas conductas, revelando de esta forma patrones de conectividad en el sistema nervioso central involucradas en el comportamiento. Se han logrado muestrear poblaciones neuronales ubicadas dentro de un área anatómicamente definida y a las cuales se ha podido clasificar en categorías, es decir, células que responden activándose o inhibiéndose o no generando respuesta alguna ante un estímulo específico sea este eléctrico o conductual, como sería la presentación de sucesos agradables o gratificantes como el alimento o bien, ante eventos aversivos como la aplicación de choques eléctricos en las patas (Bures, 1976). Este método asimismo, podría ser empleado para el estudio de los mecanismos de acción de fármacos y su relación con la fisiopatología de algunas enfermedades psiquiátricas como la depresión. Por lo anterior, el presente proyecto de investigación tuvo como objetivo explorar la participación de señales odoríferas que pudieran ser emitidas en una situación social aversiva y que a su vez pudieran desencadenar cambios conductuales y electrofisiológicos sugerentes de desesperanza.

2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La depresión es un trastorno frecuente, sin embargo el estudio de los procesos anatomofuncionales involucrados en este padecimiento es aún escaso, principalmente por las cuestiones éticas en el manejo de pacientes deprimidos. Por ello, a sido necesario diseñar modelos animales los que, en su mayoría, remedan algunas de las alteraciones fisiopatológicas de la depresión reactiva induciendo en los animales un estado de desesperanza. Así, se tiene evidencia de que la desesperanza se produce por la aplicación continua y prolongada de estimulación aversiva en grado suficiente en duración e intensidad como para rebasar el repertorio de soluciones del individuo. La mayor parte de los modelos para el estudio experimental de la depresión han empleado choques eléctricos inevitables, aislamiento o incluso estímulos sociales. Existen además modelos quirúrgicos como los que se basan en una ablación bilateral del bulbo olfatorio. En la rata, el bulbo olfatorio envía proyecciones directas a diferentes estructuras cerebrales relacionadas con las emociones como el hipocampo, la amígdala, el hipotálamo y los núcleos septales (Richardson, 1991). La extirpación de esta estructura produce un deterioro de diversos sistemas neuroendocrinos relacionados con la depresión, como una elevación de la concentración plasmática de corticosterona, disminución de la concentración cerebral de noradrenalina y dopamina, pérdida del peso corporal, cambios en los patrones de alimentación y de sueño, deterioro de la conducta sexual e hiperreactividad. La administración crónica (pero no aguda) de antidepresivos restablece la normalidad en los animales bulbectomizados (Richardson, 1991). Por tanto, parece que la bulbectomía olfatoria es un modelo sensible a detectar la actividad antidepresiva en ratas. Sin embargo, su principal desventaja, es que se requieren de 2 a 4 semanas para determinar las consecuencias de la lesión, además de que se suprime uno de los principales órganos sensoriales de las ratas (Porsolt et al., 1991), por lo que muchas de sus conductas podrían ser debidas a la lesión *per se* y no a cambios específicos en los sistemas motivacionales, pues con esta lesión se está induciendo una privación sensorial, la cual podría ser la causa de los cambios observados. Por lo que es recomendable el uso de procedimientos menos invasivos para validar los modelos que remedan la depresión clínica, por ejemplo, tomando las señales odoríferas como inductoras de pautas equivalentes a la ansiedad o la depresión, dado que es desconocido en que medida los estímulos odoríferos emanados de un animal estresado pudieran desencadenar cambios motivacionales en conoespecíficos expuestos a dichos mensajeros químicos. En una breve revisión (**ver apéndice G**) encontramos que las señales de alarma que los roedores utilizan, provocan una variedad de respuestas conductuales y fisiológicas en conoespecíficos, relacionadas sobre todo con conductas de huida,

evitación o ansiedad (Carr et al., 1970; Rottman y Snowdon, 1972; Abel 1991ab; Zalaquett y Thiessen, 1991; Kikisiui et al., 2001); sin embargo, se desconoce si dichas sustancias podrían a corto o a largo plazo desencadenar una desesperanza conductual semejante a la observada cuando se emplean estímulos físicos directos sobre el animal, como sería el caso de la aplicación de choques eléctricos en las patas, el nado forzado, entre otros, para abordar así el estudio experimental de la depresión por medio de estímulos "naturales" emitidos en una interacción psicosocial conflictiva capaz de modificar los estados motivacionales de los animales involucrados.

3. HIPÓTESIS

La estimulación odorífera ligada a una situación aversiva es capaz de modificar algunas pautas conductuales extrapolables a la depresión y a la ansiedad, en paralelo a la modificación de la actividad neuronal del núcleo septal lateral y del núcleo de la amígdala basolateral, tanto en un primer grupo que recibe choques inescapables e inevitables en las patas, como en un segundo grupo que solamente recibe estimulación sensorial proveniente del primer grupo, al que hemos denominado testigo-presencial.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar los cambios conductuales en la prueba de nado forzado y enterramiento defensivo, así como en la actividad multineuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral en animales sometidos a estimulación odorífera durante y después de una situación de estrés psicosocial.

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

4.2.1. Explorar la repercusión del estrés psicosocial en la inmovilidad en la prueba de nado forzado y en el enterramiento en el modelo de conducta defensiva; y, finalmente definir la posible reversión de una inyección única de un fármaco con propiedades ansiolíticas (benzodiazepina).

4.2.2. Determinar si la exposición diaria (10 minutos, 35 días) a los olores provenientes de la orina de otro animal que recibe choques eléctricos en las patas modifica la inmovilidad en la prueba de nado forzado y definir la posible reversión anti-inmovilidad por un tricíclico (imipramina, 14 días).

4.2.3. Determinar por medio de programas periestímulo de la actividad multiunitaria, la acción de una sustancia cetónica, identificada en insectos como una sustancia de alarma, sobre el núcleo septal lateral y el núcleo de la amígdala basolateral de la rata.

4.2.4. Explorar los posibles cambios de la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral ante la estimulación odorífera que emana de la propia orina de una rata en situaciones basales y en otras donde ha sido sometida a una sesión de estrés psicosocial.

4.2.5. Definir la presencia de compuestos cetónicos volátiles en la orina de ratas que pudieran estar involucrados en el desarrollo de la ansiedad y de la desesperanza en animales sometidos a una sesión de estrés psicosocial y explorar la acción de un ansiolítico sobre los niveles urinarios de dichas sustancias.

5. MATERIAL Y METODOS

5.1. Procedimientos Generales

El programa experimental se llevó a cabo en varias etapas. Para el estudio conductual, se realizaron dos experimentos. Todos los animales de acuerdo al grupo experimental al que pertenecían fueron colocados inicialmente en una caja de dos compartimentos, un método diseñado por Ogawa y Kuwahara (1966) el cual fue modificado en cuanto al número de compartimentos. Así, se construyó una caja de vidrio de dos compartimentos (30.0 x 25.0 cm de base y 30.0 cm de altura), con el piso electrificado compuesto por barras de acero inoxidable de diámetro de 0.5 cm y 1.3 cm entre una y otra barra. Los compartimentos (15.0 cm x 12.5 de base y 30.0 cm de altura) estuvieron divididos a la mitad por una placa de vidrio opaca de 0.2 cm de espesor de tal forma que los animales no pudieron tener contacto visual. Se colocó un plato de plástico perforado con pequeños orificios sobre el piso de uno de los dos compartimentos para prevenir que los animales recibieran choques eléctricos en las patas (compartimento seguro). Por tanto, el rango de distancia entre una rata y otra, debido a la partición, fue de 0.2 a 10.0 cm dependiendo de la posición de la rata dentro de la caja. Después de que las ratas permanecieron en esta caja de comunicación de dos compartimentos durante 10 minutos, fueron evaluadas en la prueba de campo abierto para medir la actividad locomotriz; otros grupos de animales fueron evaluados en la prueba de nado forzado, un modelo para el estudio experimental de la depresión o en la prueba de enterramiento defensivo, un modelo para el estudio experimental de la ansiedad.

Para el estudio electrofisiológico, se llevaron a cabo tres experimentos en los cuales todos los animales fueron colocados en la caja de dos compartimentos de acuerdo al grupo experimental perteneciente y posteriormente fueron sometidos a un registro multineuronal de la actividad del núcleo septal lateral y del núcleo de la amígdala basolateral.

5.2. Animales

Se utilizaron 244 ratas albinas macho de la cepa Wistar, de tres meses de edad, con peso entre los 250 y 350g al inicio de los experimentos. Las ratas se mantuvieron en un bioterio de estancia en cajas de acrílico traslúcidas (45 x 30 x 30 cm) en grupos de 6 a 8 animales por caja, con ciclo de luz/oscuridad de

12 x 12 h (la luz se encendió a las 7:00 a.m.) y con libre acceso al agua y al alimento. Todas las ratas fueron manipuladas diariamente durante una semana antes de iniciar los experimentos.

Cabe mencionar que, para la realización del presente proyecto, la asignación de las ratas al grupo control y a los grupos experimentales fue aleatoria. Cada grupo fue alojado independientemente, constituido cada uno de 6 a 8 animales por caja y se igualaron las condiciones de hábitat como de manipulación experimental. Por tanto, aún cuando las condiciones de alojamiento pudieran generar cierto grado de estrés a las ratas que conformaron cada uno de los grupos en estudio, todas estuvieron bajo las mismas condiciones de experimentación excepto en el estrés inducido a cada grupo experimental y no se agregaron otro tipo de condiciones que facilitaran aún más el déficit conductual dado que se hubieran mezclando situaciones generadoras de estrés, como lo sería el caso del aislamiento.

5.3. ESTUDIO CONDUCTUAL

5.3.1. Pruebas conductuales

5.3.1.1. Actividad locomotriz en campo abierto

Las ratas fueron depositadas individualmente en una de las esquinas de una caja de acrílico (44 x 33 cm) con paredes de 20 cm de altura y con el piso dividido en 12 cuadros de 11 x 11 cm (fig. 1). Se llevó a cabo una preprueba de 5 minutos, sin valor estadístico dado que su única finalidad fue la de habituar al animal a la caja de prueba. Veinticuatro horas después, se realizó el registro de prueba. La duración fue de 5 minutos y se evaluó el número de veces que el animal cruzó un cuadro con sus cuatro patas. Después de cada prueba por rata, la caja fue limpiada cuidadosamente con una solución conteniendo amoníaco 0.5%, etanol 15%, extran 10%, isopropanol 5%, pinol 19% y agua 59.5 %.



Fig. 1. Prueba de actividad locomotriz en campo abierto. Su finalidad es descartar cualquier componente motor inespecífico que pudiera generar un falso positivo al interpretar la prueba de nado forzado.

5.3.1.2. Prueba de nado forzado

Se utilizó la prueba de nado forzado diseñada por Porsolt y colaboradores (1977), modificada en cuando al tamaño y forma del estanque. La prueba de nado forzado se inició al introducir a las ratas individualmente en un estanque rectangular (50 x 35 cm de base y 60 cm de altura) con agua a temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. El nivel del agua varió de acuerdo a la longitud del animal (21-23 cm) de tal manera que la rata pudo tocar el fondo del estanque y mantener la narina por fuera de la superficie del agua (fig. 2). El día anterior de esta sesión de prueba, se obtuvo una primer sesión que tuvo una duración de 15 minutos, después de la cual los animales fueron colocados en una caja de secado a temperatura ambiente y regresados al bioterio de estancia. Esta sesión fue llamada pre-prueba y sus resultados no fueron tomados en cuenta para el análisis estadístico, dado que su función fue inducir desesperanza (Porsolt et al., 1977; Borsini et al., 1989). Veinticuatro horas después se realizó la sesión de prueba (5 minutos) inmediatamente después de que los animales estuvieron en la caja de dos compartimentos (10 minutos). Se consideró como inmovilidad aquel episodio en el que el animal tocó la base del estanque con una o dos de sus extremidades posteriores, o bien cuando se mantuvo a flote realizando movimientos mínimos que le permitieron mantener la narina por arriba del nivel del agua, pero que no implicaran desplazamiento ni intento de escape. La latencia a la primera inmovilidad fue definida como el tiempo en

segundos que tarda un animal en desplegar la inmovilidad desde el momento en que fue colocada en el estanque. Indica el primer esfuerzo que el animal emite para enfrentar la situación de apremio que el nado representa y es una medida adicional al tiempo total de los episodios de inmovilidad (Contreras et al., 1998; Espejo y Miñano, 1999). También se cuantificó el número de episodios de inmovilidades desplegados durante la prueba. De esta manera, tanto la duración total de la inmovilidad como el número de inmovilidades son indicativos del grado de desesperanza desarrollado en las ratas que son forzadas a nadar (Porsolt et al., 1977). Las variables evaluadas en la prueba de nado forzado fueron registradas por dos observadores independientes. Todas las sesiones fueron filmadas para posteriormente realizar un registro sobre el video tape que permitiera la verificación una y otra vez de los resultados obtenidos. Las sesiones experimentales se realizaron entre las 8:00 y las 11:00 a.m. y el agua del estanque fue cambiada por agua limpia entre una y otra rata.

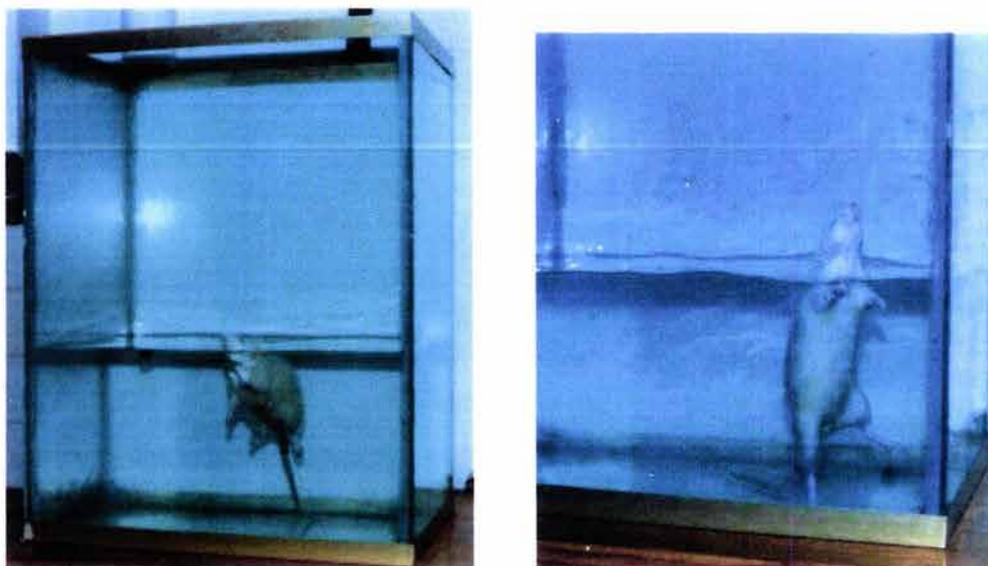


Fig. 2. Prueba de nado forzado, útil para medir la eficacia de algunos fármacos antidepresivos. En este modelo, las ratas realizan los mínimos movimientos para mantener la narina por fuera de la superficie del agua e incluso estiran las extremidades posteriores o el rabo.

5.3.1.3. Modelo de conducta defensiva de enterramiento

En este modelo (Pinel y Treit, 1978) las ratas se introdujeron individualmente en una caja de acrílico (27 x 17.5 x 15.5 cm) cuyo piso estuvo cubierto con una capa de viruta fina (5 cm de espesor). De una de las paredes de la caja (17.7 x 15.5 cm) emergió horizontalmente un electrodo que fue construido a partir de un trozo de madera (7cm de longitud, 1 cm de diámetro) y alambre de acero inoxidable (California Fine Wire Co.), el cual se encontraba 2 cm por arriba de la viruta (fig. 3). El electrodo se conecto a un estimulador Grass S44 (Quincy, Mass, USA) conectado a su vez a un amperímetro (Grass CC1 A, Quince, Mass, USA) el cual liberó pulsos eléctricos de baja intensidad (0.3 mA, corriente constante). Cuando los animales exploraron la caja, recibieron incidentalmente algunos choques y comenzaron a cubrir el electrodo con la viruta (enterramiento). La duración de la prueba fue de 10 minutos y de una sola exposición. Las variables evaluadas fueron: la latencia al enterramiento definida como el tiempo en segundos que tardó el animal en desplegar el enterramiento una vez recibido el primer choque eléctrico y el tiempo total de enterramiento (el tiempo que pasó enterrando el poste electrificado). El tiempo total de enterramiento indica los niveles de ansiedad experimental mientras que la latencia al enterramiento es interpretada como un índice de reactividad (Treit, 1985).



Fig. 3. Prueba de enterramiento defensivo. En esta prueba, las ratas cubren con aserrín un electrodo que representa una fuente de estimulación aversiva, ya que cuando lo tocan reciben un choque eléctrico de baja intensidad.

5.3.2. Análisis de datos

Los datos obtenidos en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto, nado forzado y enterramiento defensivo fueron sometidos al análisis de varianza de una vía para grupos independientes y para identificar las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y el grupo control se utilizó la prueba *post-hoc* de Dunnett para datos paramétricos. El criterio de significancia estadística sólo incluyó diferencias de $p \leq 0.05$. Por tanto, los resultados se representan como la media \pm el error estándar. Para el análisis estadístico de los datos, se eliminaron algunos sujetos experimentales con los siguientes criterios: de la prueba de nado forzado se eliminaron aquellas ratas cuyo tiempo total de inmovilidad sobrepasó el valor de la media \pm 1 desviación estándar con respecto al grupo control. Para el caso de la prueba de enterramiento defensivo se eliminaron aquellas ratas cuya latencia al enterramiento fue de 600 s y su tiempo total de enterramiento igual a cero.

Para el análisis del ensayo farmacológico con diazepam en el que solo se formaron dos grupos, los datos obtenidos en la prueba de enterramiento defensivo y actividad locomotriz fueron sometidos a una prueba t de Student. El criterio de significancia estadística sólo incluyó diferencias de $p \leq 0.05$. Por tanto, los resultados se representan como la media \pm el error estándar.

5.4. ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO

5.4.1. Electrodo

Se utilizaron electrodos bipolares trenzados (distancia entre las puntas de 1mm, superficie de registro: 0.5 mm; y resistencia eléctrica 100 K Ω), contruidos a partir de alambre de acero inoxidable de 3 cm de largo (California Fine Wire Co.). Se tomaron dos trozos de alambre (3 cm de longitud), los cuales se unieron longitudinalmente con pegamento (cianocrilato, KolaLoka ®) dejando íntegro el aislamiento con teflón excepto en la punta, donde quedó descubierta la superficie de su sección transversal.

5.4.2. Preparación quirúrgica

La rata fue introducida en un desecador el cual contenía éter etílico (J. T. Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, México). Una vez anestesiada, fue retirada del recipiente y rápidamente se le realizaron las siguientes cirugías, la anestesia con éter se mantuvo hasta que se llevó a cabo el corte de la médula espinal:

5.4.2.1. Traqueotomía. Se realizó una incisión longitudinal de la piel en la parte ventral del cuello, disecando los músculos esternohioideo, esternotiroideo y la glándula tiroides. Una vez expuesta la tráquea se realizó un corte transversal, a la altura del séptimo anillo cartilaginoso; se colocó un tubo de polietileno de 3 cm de longitud y 1.5 mm de diámetro; posteriormente se procedió a realizar puntos de sutura para sujetar el tubo de polietileno con los músculos y cerrar la herida. Esta maniobra permitió proporcionar respiración artificial a la rata por medio de una bomba (Ugo Basile, model 7028, Comerio-Verese, Italy) que se conectó segundos antes de seccionar la médula espinal. Después del corte se retiró el anestésico y la respiración artificial se mantuvo con el aire del medio ambiente (fig. 4).

5.4.2.2. Encéfalo aislado. Después de la traqueotomía, la rata fue colocada en un aparato estereotáxico (Stoelting, Wood Dale, II, USA) con la barra de incisivos en -5.0 mm para inmovilizarla. Se realizó una incisión longitudinal sobre la piel de la parte dorsal del cuello, se separaron los músculos paravertebrales cervicales hasta localizar la primer y la segunda vértebras cervicales, para alcanzar los segmentos cervicales C1-C2. Posteriormente se procedió a realizar una laminectomía para exponer la médula espinal y se le cortó transversalmente para eliminar las conexiones sensoriomotoras aferentes y eferentes somáticas. Unos segundos antes de cortar la médula espinal, el tubo de polietileno colocado en la tráquea se conectó a la bomba de respiración artificial a volumen y frecuencia constante (52 pulsos/minutos, volumen respiratorio= 125 cc/minutos). Y por último, se suturaron los músculos paravertebrales y la piel para cerrar la herida. Por medio de esta técnica se tiene una preparación quirúrgica caracterizada por un cuerpo inmóvil e insensible por debajo del plano del corte espinal, en un animal consciente y despierto.

5.4.3. Pretratamiento

Debido a que la sección de la médula espinal provoca una caída de la tensión arterial, fue necesario restablecerla con la administración de un fármaco simpaticomimético para el cual ya hemos tenido experiencias exitosas (Bernal-Morales, 1997; Contreras, 1998). El clorhidrato de etilefrina (Effortil,

Boehringer-Ingelheim, Prometo S.A. de C.V., México), un agonista con afinidad por receptores α_1 , β_1 y β_2 -adrenérgicos, fue el fármaco de elección, el cual fue administrado a una dosis de 4mg/kg i.m., al terminar la cirugía de encéfalo aislado. También se utilizó lidocaína al 2% como anestésico local, el cual fue aplicado en las partes en donde se realizaron incisiones sobre la piel del animal y en los puntos donde hizo contacto el aparato estereotáxico, esto es, en los conductos auditivos externos y en el tímpano.

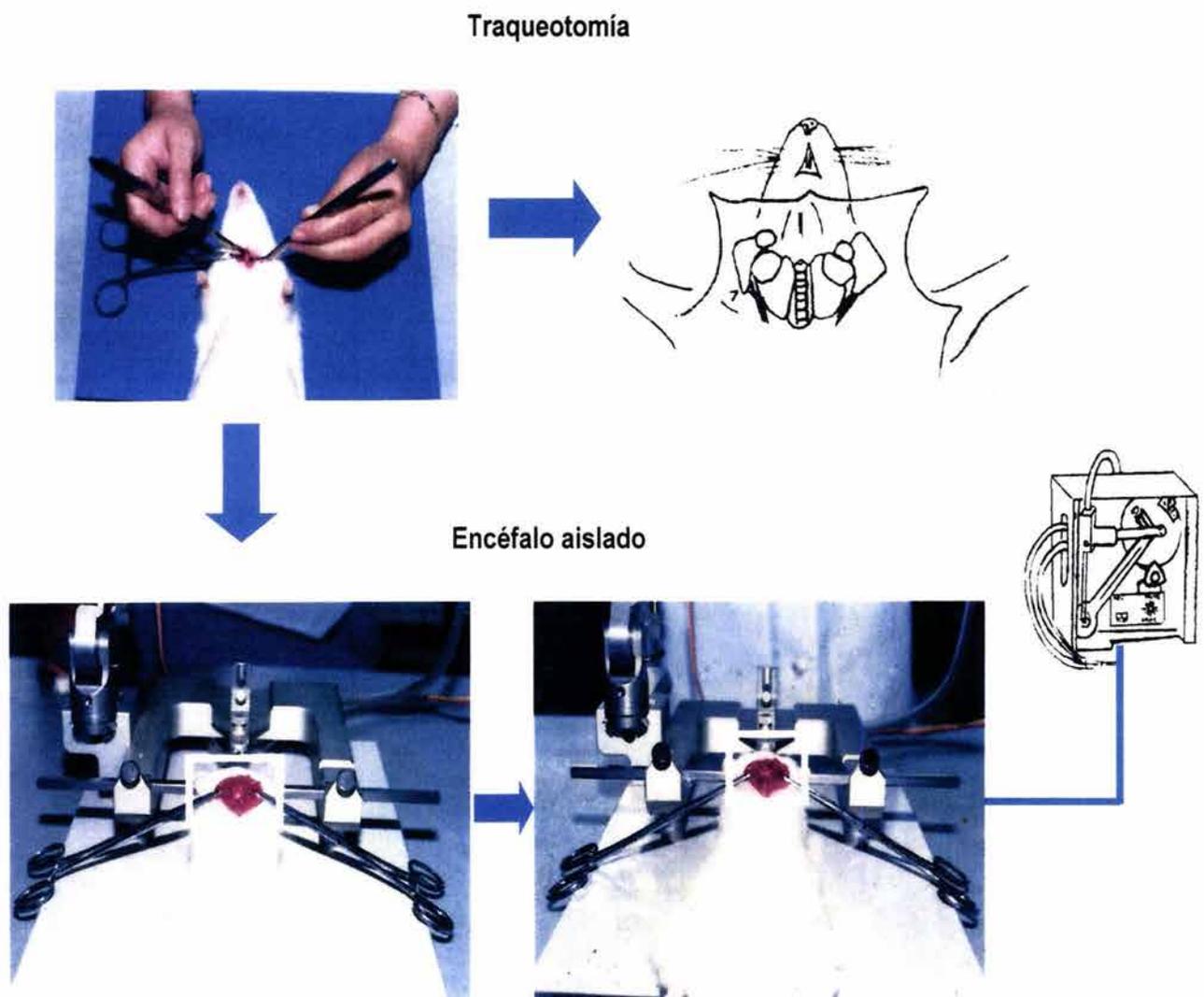


Fig. 4. Se ilustra la preparación quirúrgica realizada antes de llevar a cabo el registro de la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral en ratas con preparación de encéfalo aislado.

5.4.4. Cirugía estereotáxica

Se rasuró la cabeza de la rata y se procedió a iniciar la cirugía estereotáxica. Para ello se realizó una incisión sobre la piel del cráneo en dirección rostro-caudal; se raspó el periostio y se localizó la sutura de bregma, identificada en la intersección del hueso frontal y los huesos parietales en la línea media. Con un taladro dental (Foredom Electric Co.) se realizaron tres trépanos (aproximadamente de 1 mm de diámetro), orientados estereotáxicamente de acuerdo a las coordenadas de Paxinos y Watson (1982), hacia el núcleo olfatorio accesorio (Ap= 6.2mm, L= 1.5 mm, y H= 1.3 mm por debajo de la corteza), otro hacia el núcleo septal lateral (NSL, L= 0.5 mm, Ap= 0.2 mm, H= -3.0 a -5.0 mm por debajo de la corteza) y otro dirigido hacia el núcleo de la amígdala basolateral (Ap= 3.3 mm posterior a bregma, L= 5.0 mm, H= -7.5 mm por debajo de la superficie de la corteza). Una vez que los electrodos fueron colocados en los sitios correspondientes, se fijaron al cráneo con acrílico dental (Nic Tone[®]). Además se colocaron electrodos epidurales en la corteza parietal para monitorear el EEG.

5.4.5. Registro de la actividad multiunitaria

Una vez transcurrida una hora post-operatoria, se realizó el registro de la actividad multiunitaria. El electrodo de registro se conectó a un amplificador (Grass 7P511L con filtros de frecuencia: baja 10 Hz; alta 30 KHz). La señal biológica se envió a un estimulador Grass S88 (Quincy, Ma, USA) el cual emitió pulsos cuadrados de amplitud y duración constantes (4 V, 0.6 ms) correspondientes a cada espiga, que fueron enviados a la entrada serial (RS232) de una PC-IBM compatible. En la PC una serie de programas elaborados *ex profeso* procesaron la actividad multiunitaria de las estructuras registradas durante 6 minutos y proporcionaron histogramas de frecuencia, su media y el error estándar. Una vez capturada la actividad multiunitaria neuronal de cada una de las estructuras mencionadas, se procedió a realizar la estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio (fig. 5).



Cirugía estereotáxica

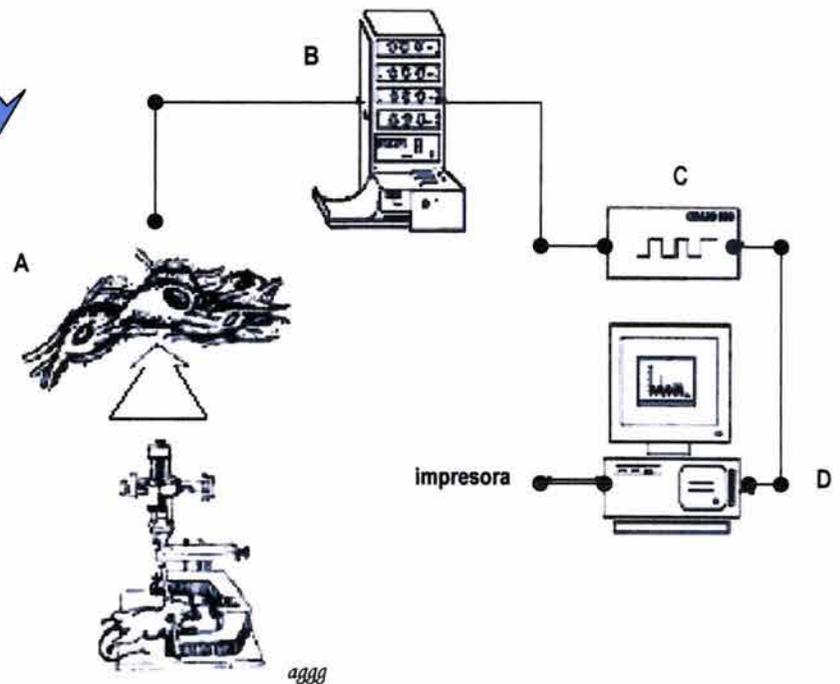


Fig. 5. Registro multineuronal. Con el registro de la actividad multiunitaria es posible evaluar los cambios tanto en amplitud como en frecuencia de la actividad neuronal de cierta población de células. Durante la actividad neuronal (potenciales de acción) se incrementa el intercambio iónico generándose un campo eléctrico en la inmediación del electrodo de registro. El electrodo (A) detecta estos cambios en el espacio extracelular y por medio de un sistema de amplificación (B), los potenciales de acción son transformados en pulsos eléctricos de amplitud y duración constantes por medio de un estimulador (C), con los cuales se alimenta a una computadora (D) que por medio de programas especiales digitaliza los pulsos provenientes del estimulador y proporciona los histogramas de frecuencia, la media y el error estándar de la actividad multiunitaria.

5.4.6. Estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio

Para la estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio se utilizó un electrodo bipolar trenzado (distancia entre las puntas de 1mm), aislado con teflón excepto en la punta (0.5 mm). El electrodo de estimulación se conectó a un estimulador Neuropack electromyograph MEM-3102 (Nihon Kohden, USA) que envió pulsos (1 Hz, 0.5 ms) al núcleo olfatorio accesorio. La PC por medio de programas diseñados *ex profeso* proporcionó histogramas de frecuencias en el tiempo, que permitieron identificar tres tipos de respuesta (inhibición, excitación, o no respuesta) en la actividad multiunitaria del núcleo de la amígdala basolateral y del núcleo septal lateral ante la estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio.

Se monitoreó la frecuencia cardiaca y el EEG cortical en un polígrafo (Grass 79G) mediante la colocación de electrodos en las extremidades anteriores de la rata en un símil de la derivación I del electrocardiograma. Además se colocaron electrodos epidurales para el control continuo de la actividad electrocorticográfica. Estas mediciones no fueron analizadas estadísticamente pero nos permitieron detectar cambios en las funciones vitales del animal que pudieran interferir con los resultados del experimento. Así, cuando se detectó una disminución o un incremento de la frecuencia cardiaca de $\pm 10\%$ en 10 minutos (media: 250 pulsos/minutos) se dio por concluida la sesión. Asimismo, una baja en la actividad electrocorticográfica $<10 >3$ cps, $<50 \mu\text{V}$, sin signos de sueño, nos indicó cambios sugerentes de muerte neuronal o bien de hipoxia.

5.4.7. Estimulación odorífera

Se construyó una cánula guía de tubo de polietileno (Cole-Parmer Instrument) de 1 mm de diámetro y 1 cm de longitud, la cual fue colocada y fijada a la fosa nasal izquierda de la rata, inmediatamente después de terminada la cirugía estereotáxica. Esta cánula guía a su vez, fue acoplada a una de varias cánulas construidas a partir de tubos de microboro (DI 0.022, DE 0.042, Cole-Parmer Instrument) de 45 cm de longitud. Estas cánulas de inhalación fueron acopladas a una llave de tres vías (Discofix®-3, Laboratorios Pisa) conectada a una jeringa de 20 cc B-D ACE (Becton Dickinson). Dentro de esta jeringa se colocaron pequeños algodones impregnados con 0.4 ml de una de las siguientes sustancias ensayadas: 2-heptanona (Sigma Chemical Co. Po. St. Louis, MO USA), 3-heptanona (Sigma Chemical Co. Po. St. Louis, MO USA), acetona (J.T. Baker, S. A., Xalostoc, México), benceno (Uvasol®, E. Merck,

Darmstadt), metanol (J.T. Baker, S. A., Xalostoc, México), orina de la propia rata y orina de ratas estresadas por choques eléctricos en las patas (fig. 6).

Una vez que la frecuencia y la amplitud del registro se mantuvieron sin variaciones repentinas (alrededor de una hora después de la cirugía), se procedió a realizar un registro multiunitario del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral. Para ello se obtuvo un registro control de 2 minutos de la actividad multineuronal basal de ambas estructuras; después, se administró como primer ensayo aire a la fosa nasal con el dispositivo de jeringa antes descrito, a un flujo constante de 5 ml/15 s durante 2 minutos. Inmediatamente después de la aplicación de aire se procedió a registrar 2 minutos post-inhalación. En la PC una serie de programas elaborados *ex profeso* procesaron la actividad multiunitaria de las estructuras registradas durante 6 minutos y proporcionaron histogramas de frecuencia, su media y el error estándar, cada 15 seg. Posteriormente, se procedió a cambiar la cánula de inhalación de aire por otra cánula de inhalación correspondiente a cada una de las siguientes sustancias: 2-heptanona, 3-heptanona, acetona, benceno, metanol, la orina proveniente del mismo sujeto o la de otro animal previamente estresado. El orden y la secuencia de la aplicación de cada sustancia siguieron un diseño de cuadrados latinos, es decir, todos los animales recibieron todas las sustancias antes mencionadas, pero en diferente orden las cuales fueron administradas de la misma manera que el ensayo con aire. Se dejaron transcurrir 30 minutos entre la aplicación olfativa de una y otra sustancia. Tanto la jeringa como la llave de tres vías fueron lavadas con agua y puestas a secar en una estufa de incubación (Felisa, Mod. 241, México) después de cada ensayo. Asimismo, la recolección del estímulo odorífero orina se obtuvo al finalizar la cirugía de traqueotomía por medio de una pequeña incisión en la parte ventral para exponer la vejiga urinaria y extraer la orina de modo tal que cada rata recibió como estímulo su propia orina. Con puntos en cruz se suturó al animal.

5.4.8. Control histológico

Al finalizar cada sesión de registro se procedió a marcar tanto el sitio de estimulación como los de registro multiunitario, dejando pasar corriente directa durante 60 seg (30 seg cada polo), a través de los electrodos correspondientes. Posteriormente, los animales fueron perfundidos por vía intracardiaca con formaldehído al 20% (50 ml), se extrajeron los cerebros y se conservaron en formaldehído al 20% para la verificación histológica de los sitios de registro. Al realizar el control histológico se utilizó una técnica de verificación gruesa. Para el análisis estadístico sólo se consideraron los registros neuronales en los que

mediante el control histológico fue identificada la trayectoria del electrodo de estimulación en el núcleo olfatorio accesorio y los de registro en el núcleo septal lateral y el núcleo de la amígdala basolateral.

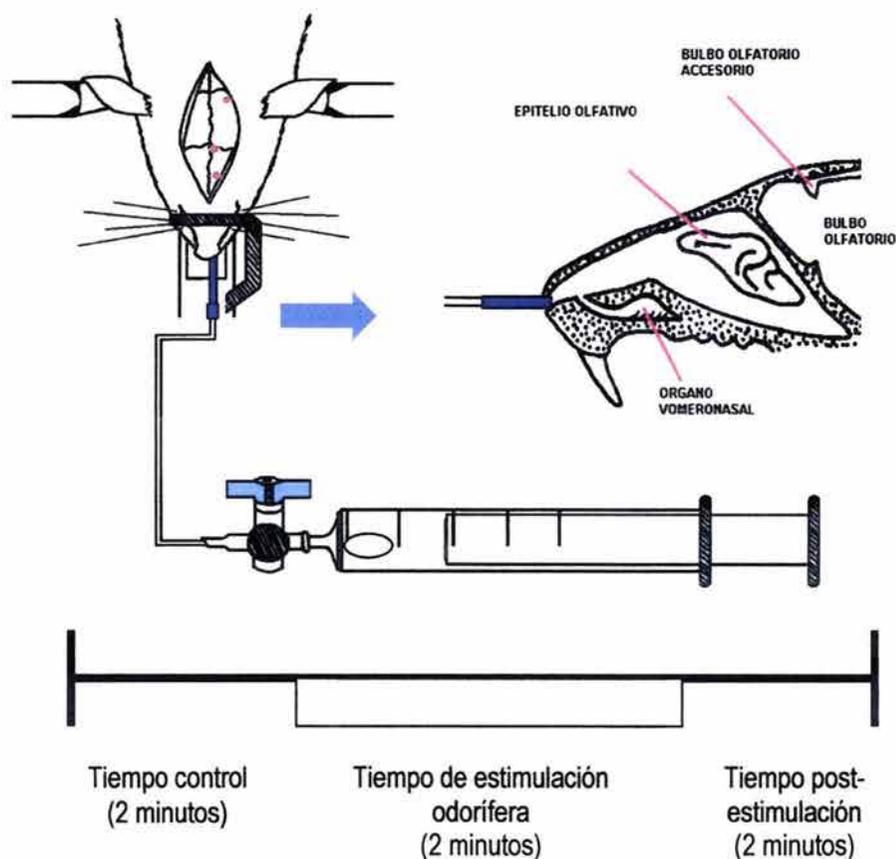


Fig. 6. Esquema que ilustra el dispositivo empleado en la secuencia de la estimulación olfativa para el registro multineuronal.

5.4.9. Análisis de datos

Se eliminaron aquellos datos electrofisiológicos provenientes de registros donde los electrodos cayeron fuera de sitio. Para poder llevar a cabo el análisis de la actividad multiunitaria, los datos fueron normalizados con percentiles, tomando la frecuencia promedio de los dos minutos del tiempo control (antes de la estimulación eléctrica y odorífera) del registro como el 100%. Se siguió un diseño intragrupo para normalizar los datos, es decir, se evaluaron los cambios durante la inhalación con respecto al tiempo control, para cada una de las ratas que integraron el grupo control y los dos grupos experimentales. Posteriormente se aplicó un ANOVA de una vía para muestras repetidas para realizar una comparación intragrupo. Después del análisis de varianza se hicieron comparaciones pareadas utilizando la prueba de *t* de Student como *post-hoc*.

6. SERIES EXPERIMENTALES

6.1. EXPERIMENTO I. *Estrés psicosocial: efectos ansiogénicos y depresivogénos.*

6.1.1. Antecedentes

Dado que los animales sometidos a un estrés físico como los choques eléctricos en las patas pueden inducir un estrés psicosocial en otro animal por medio de una comunicación sensorial caracterizada por las vocalizaciones, la defecación, la micción y los saltos emitidos por su compañero durante la aplicación del estresor físico (Ichikawa et al., 1992), es posible suponer que el estrés psicosocial inducido en uno de los animales ante el contacto sensorial de aquel que está siendo sometido a choques eléctricos en las patas, podría constituir un estímulo lo suficientemente relevante como para modificar el comportamiento del animal en el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado, pero que tal vez ocurre ante modalidades de estimulación sensorial aversiva (por ejemplo, auditivas u odoríferas) que permita la reproductibilidad de las observaciones recabadas por otros investigadores que han empleado otros modelos animales para inducir desesperanza.

6.1.2. a) Estudio de los cambios conductuales en la prueba de nado forzado en ratas sometidas a estrés psicosocial en una caja de comunicación.

6.1.2.1. Grupos experimentales

Se utilizaron 48 ratas para el registro de la actividad locomotriz y 32 ratas para el registro del nado forzado, las cuales fueron asignadas aleatoriamente a un grupo control y dos grupos experimentales:

1. Grupo control (**Ctrl**). 16 ratas macho intactas fueron sometidas al registro de actividad locomotriz en campo abierto, mientras que otras 11 ratas intactas fueron evaluadas en el nado forzado. Ninguno de estos animales recibió choques eléctricos en las patas ni estrés psicosocial al ser colocados en el compartimento seguro de la caja de comunicación durante 10 minutos.

2. Grupo que recibió estrés físico (**grupo choques**) constituido por ratas macho que compartieron condiciones de hábitat semejantes a los animales del grupo control y del grupo testigo-presencial, excepto en que fueron colocadas dentro del compartimento de barras electrificadas de la caja de comunicación de dos compartimentos. Estos animales recibieron choques eléctricos en las patas, sin ninguna señal de advertencia.

3. Grupo de estrés psicosocial (**grupo testigo-presencial**) se formó por ratas macho que compartieron condiciones de hábitat semejantes a los animales del grupo control y grupo choques, excepto en que fueron colocadas dentro del compartimento seguro de la caja de comunicación de dos compartimentos. Por tanto, estas ratas no recibieron choques eléctricos en las patas pero fueron expuestas a la estimulación sensorial emitida por las ratas del grupo choques (consistente principalmente de vocalizaciones y olores), colocadas en el compartimento electrificado contiguo.

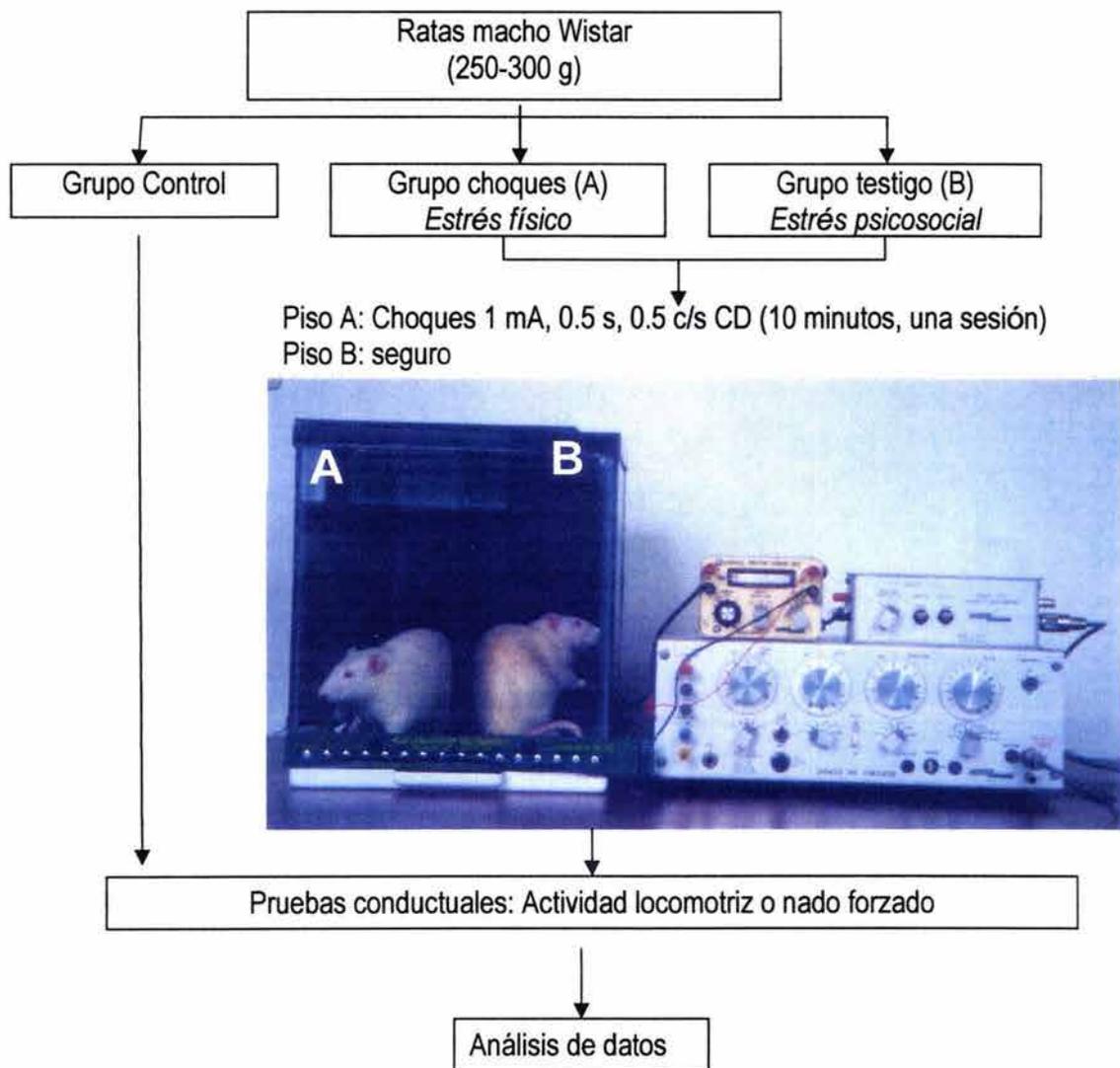
6.1.2.2. Procedimiento experimental

Por pares, cada una de las ratas que integraron el grupo choques fueron colocadas en el compartimento electrificado y de manera simultánea cada una de las ratas del grupo testigo-presencial fueron introducidas en el compartimento seguro durante 5 minutos. Veinticuatro horas después de este periodo de habituación (pre-prueba), las ratas fueron colocadas nuevamente al mismo compartimento durante 5 minutos, tras los cuales las ratas que integraron el grupo choques recibieron durante 10 minutos 40 choques por minuto (1mA, 0.5 s, CD: corriente directa). La otra rata (grupo testigo-presencial), permaneció en el compartimento contiguo sin recibir choques, pero expuesta a la estimulación auditiva y olfativa proveniente de la rata del grupo choques. Al finalizar la sesión de prueba, las ratas del grupo testigo-presencial y del grupo choques fueron sometidas a la prueba de actividad locomotriz en campo abierto o al nado forzado según les correspondió. Las ratas que integraron el grupo control, recibieron la misma manipulación, excepto en que fueron colocadas en el compartimento seguro (sin estimulación sensorial alguna), es decir no hubo compañero en el compartimento contiguo y posteriormente fueron sometidas a la prueba de actividad locomotriz o a nado forzado.

6.1.2.3. Diagrama de trabajo

Experimento I

- a) Estudio de los cambios conductuales en la prueba de nado forzado en ratas sometidas a estrés psicosocial en una caja de comunicación.

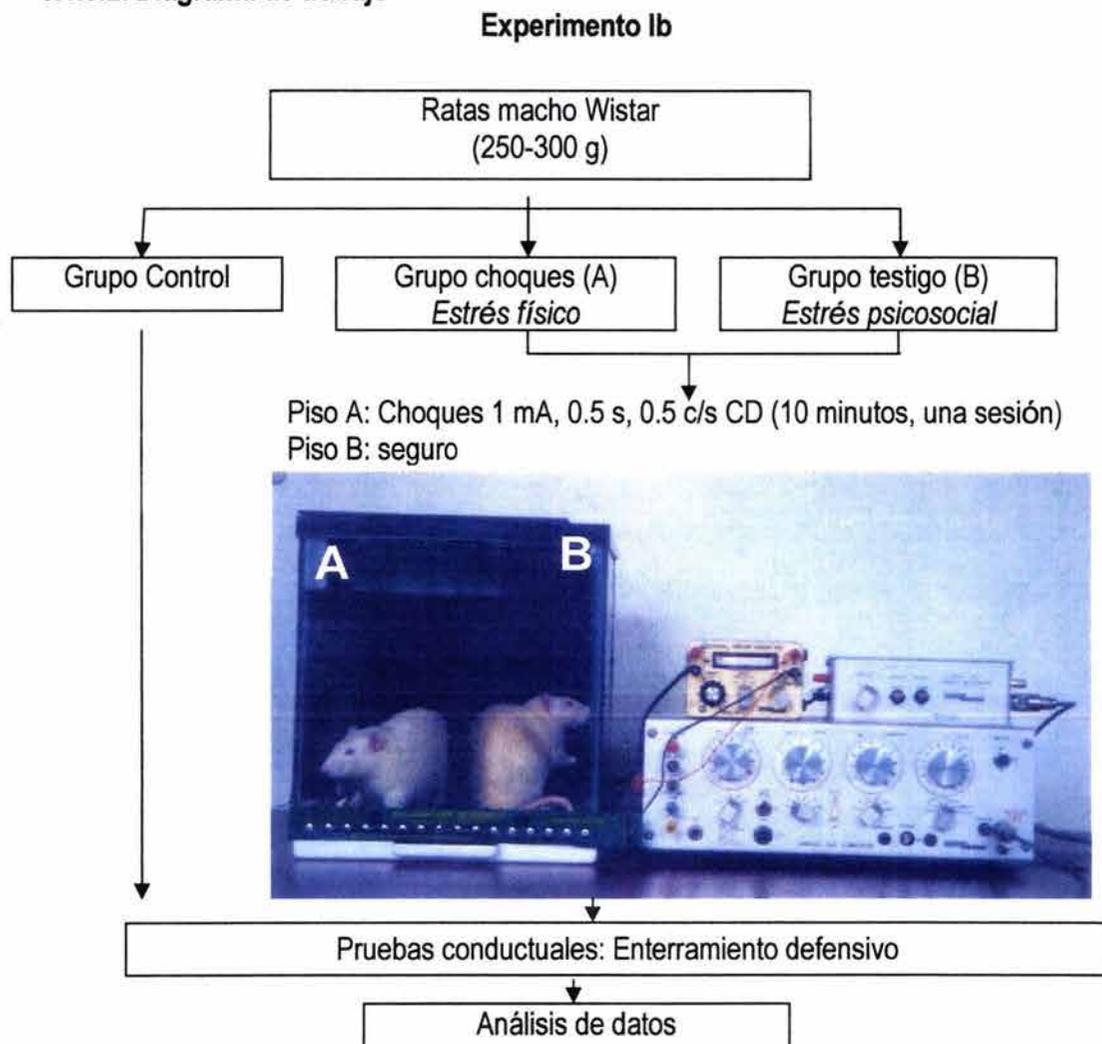


6.1.3. b) Efecto del estrés psicosocial inducido en una caja de comunicación sobre la prueba de enterramiento defensivo.

6.1.3.1. Grupos experimentales y procedimiento

Se formaron tres grupos independientes, con las mismas características descritas en el experimento 1a. Contamos con un grupo control (n=8) constituido por animales que fueron colocados en el compartimento seguro de la caja sin recibir ningún tipo de estrés; mientras que las ratas del grupo choques y del grupo testigo-presencial fueron colocadas durante una sesión en la caja de comunicación durante 10 minutos, después de los 5 minutos de habituación. El grupo choques (n=8) fue sometido a la prueba de enterramiento defensivo después de haber recibido durante 10 minutos choques eléctricos inescapables en las patas y el grupo testigo-presencial (n=9) después de haber sido sometido simultáneamente a la estimulación sensorial emitida por los animales del grupo choques ante la aplicación de pulsos eléctricos en las patas.

6.1.3.2. Diagrama de trabajo



6.1.4. c) Efecto del diazepam sobre el enterramiento defensivo en ratas testigo-presenciales sometidas a una sesión de estrés psicosocial.

6.1.4.1. Grupos experimentales y tratamiento

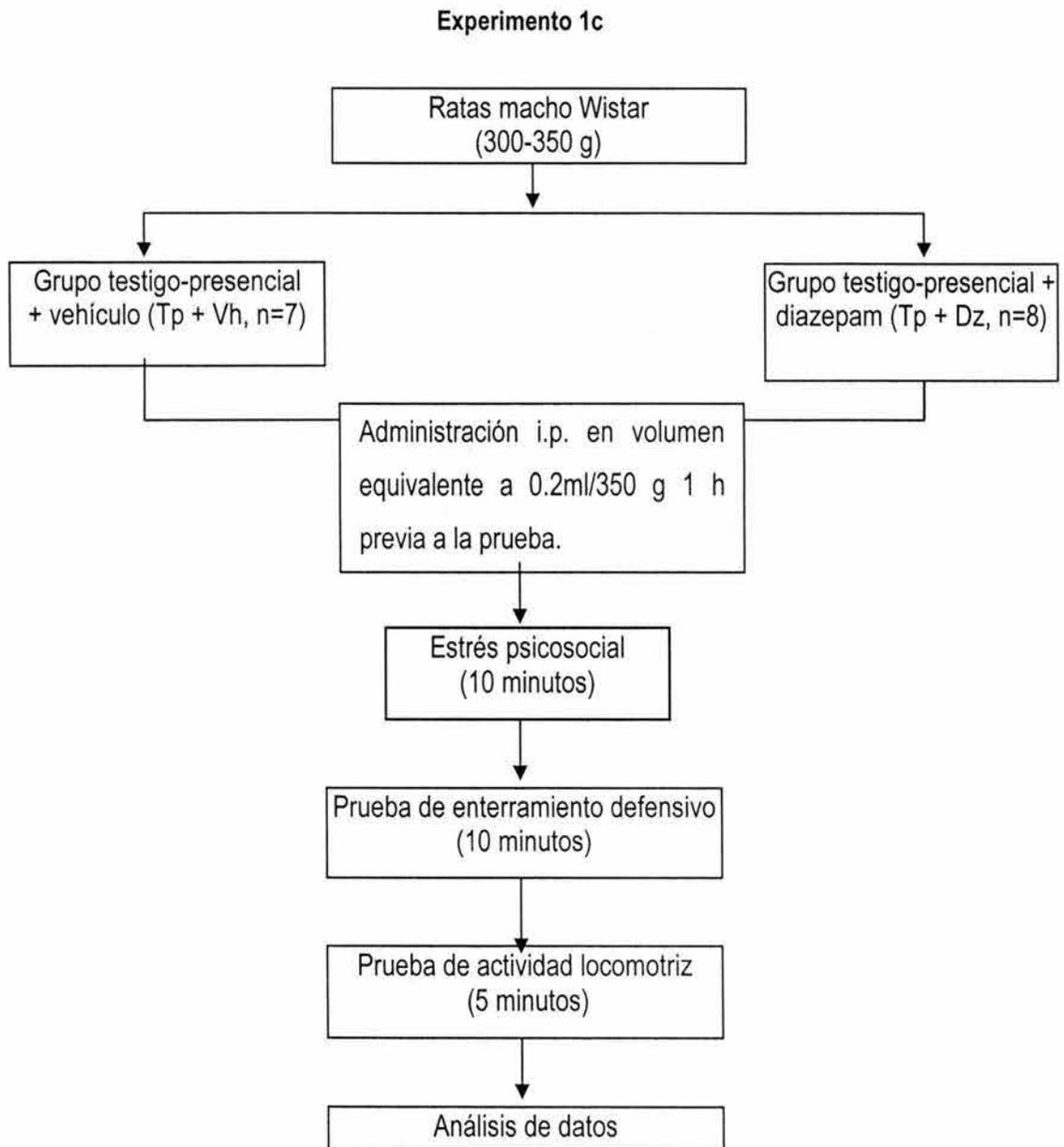
Se utilizaron 15 ratas macho, las cuales fueron asignadas aleatoriamente a dos grupos experimentales. Un grupo testigo-presencial que recibió vehículo del diazepam (Tp + Vh, n=7) y otro grupo testigo-presencial al que se le administró 1.0 mg/Kg de diazepam (Tp + Dz, n=8).

El vehículo o el diazepam fueron aplicados por vía i.p. en un volumen equivalente a 0.2ml/350g y fueron administrados una hora antes de las pruebas conductuales. Para este experimento se empleó diazepam cuya presentación comercial Relazepam® fue disuelta en agua esterilizada (Pisa ®).

6.1.4.2. Procedimiento experimental

El procedimiento experimental fue idéntico al descrito en el experimento 1b. Las ratas testigo-presenciales fueron colocadas al compartimento seguro de la caja de comunicación durante 10 minutos de manera simultánea a un grupo de ratas macho que fueron colocadas en el compartimento electrificado para que recibieran choques eléctricos en las patas. Estas ratas fungieron como inductores de estrés psicosocial a las ratas testigo-presenciales. Al término de los 10 minutos, las ratas testigo-presenciales fueron sometidas a la prueba de enterramiento defensivo (10 minutos) y finalmente a la prueba de actividad locomotriz en campo abierto (5 minutos).

6.1.4.3. Diagrama de trabajo



6.1.5. RESULTADOS

6.1.5.1. a) Estudio de los cambios conductuales en la prueba de nado forzado en ratas sometidas a estrés psicosocial en una caja de comunicación.

6.1.5.1.1. Actividad locomotriz en campo abierto

El análisis de varianza de la actividad locomotriz en campo abierto (fig. 7) mostró diferencias significativas entre los grupos [$F: 2,45 = 4.31, p < 0.01$]. La prueba *post-hoc* de Dunnett indicó que el grupo testigo-presencial cruzó un mayor número de cuadros ($38.9 \pm 4.5, p < 0.05, n=16$) al ser comparado con el grupo choques ($27.4 \pm 2.6, n=16$) y con el grupo control ($24.8 \pm 3.3, n=16$).

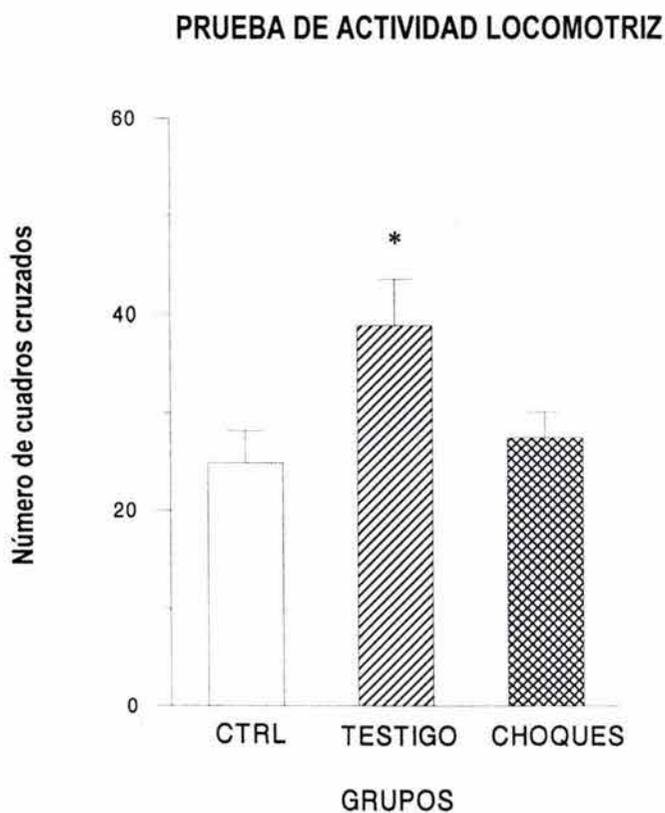


Fig. 7. Actividad locomotriz: número de cuadros cruzados. El grupo testigo-presencial (testigo) cruzó un mayor número de cuadros en comparación con el grupo control (Ctrl). Cada barra representa el promedio de 16 animales \pm el error estándar. * $p < 0.05$ vs grupo control, prueba *post hoc* Dunnett.

6.1.5.1.2. Prueba de nado forzado

No se observaron diferencias significativas entre los grupos en el número de inmovilidades ($F:2,29= 1.47$; $p<0.245$, NS) y en la latencia a la primera inmovilidad ($F:2,29= 1.98$; $p<0.156$, NS) desplegada durante la prueba de nado forzado (tabla 1).

Tabla 1. Nado forzado. La comparación de los grupos indicó una ausencia de diferencias significativas. Los datos se representan por medio de la media \pm el error estándar; NS= No significativo; n=número de ratas.

Grupos	Número de inmovilidades	Latencia a la primera inmovilidad
Control (n=11)	29.7 \pm 1.6	38.6 \pm 12.5
Testigo-presencial (n=10)	23.5 \pm 2.5	26.0 \pm 9.9
Choques (n=11)	28.0 \pm 3.3	12.8 \pm 2.3
	NS	NS

6.1.5.1.2.1. Tiempo total de inmovilidad

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado ($F:2,29= 4.97$, $p<0.01$, fig. 8). El análisis *post-hoc* de Dunnett ilustró que el grupo testigo-presencial y el grupo choques desplegaron menor tiempo total de inmovilidad al ser comparados contra el grupo control.

PRUEBA DE NADO FORZADO
Tiempo total de inmovilidad

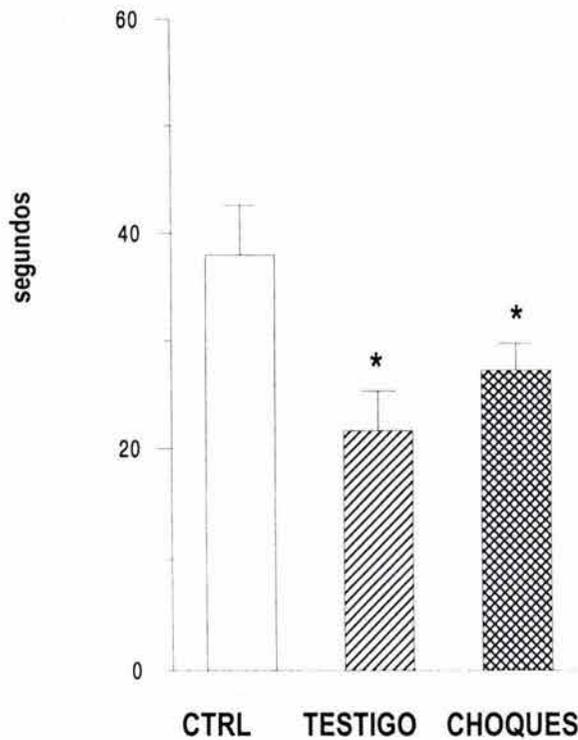


Fig. 8. Nado forzado. Tiempo total de inmovilidad. Cada barra representa el promedio de 10 a 11 animales \pm el error estándar. El grupo testigo-presencial (testigo) y el grupo choques desplegaron el menor tiempo total de inmovilidad en comparación con el grupo control (ctrl). * $p < 0.05$ vs grupo control, prueba *post-hoc* de Dunnett.

6.1.5.2. b) Efecto del estrés psicosocial inducido en una caja de comunicación sobre la prueba de enterramiento defensivo.

6.1.5.2.1. Prueba de enterramiento defensivo

El análisis de varianza no mostró diferencias significativas en el número de choques recibidos ($F:2,22= 0.503$, $p < 0.611$, NS) ni en la latencia al enterramiento ($F:2,22= 2.01$, $p < 0.157$, NS) entre los grupos experimentales (ver tabla 2). Sin embargo, el análisis de varianza mostró diferencias significativas en el tiempo total de enterramiento ($F:2,22= 4.73$, $p < 0.01$, fig. 9). El análisis *post-hoc* de Dunnett ilustró que

el grupo testigo-presencial tuvo mayor tiempo total de enterramiento ($p < 0.05$) al ser comparado con el grupo control. No se encontraron diferencias significativas entre el grupo choques y el grupo control.

Tabla 2. Enterramiento defensivo. No se encontraron diferencias significativas en el número de choques recibidos ni en la latencia al enterramiento entre los grupos, atribuibles a la manipulación experimental. NS= no significativo; n= número de ratas; los valores se representan como la media \pm el error estándar.

Grupos	Variables	Número de choques recibidos	Latencia al enterramiento
Control (n= 8)		3.75 \pm 0.79	76.4 \pm 13.45
Testigo-presencial (n=9)		5.00 \pm 1.29	40.55 \pm 12.34
Choques (n=8)		4.88 \pm 0.51	81.79 \pm 21.69
		NS	NS

PRUEBA DE ENTERRAMIENTO DEFENSIVO

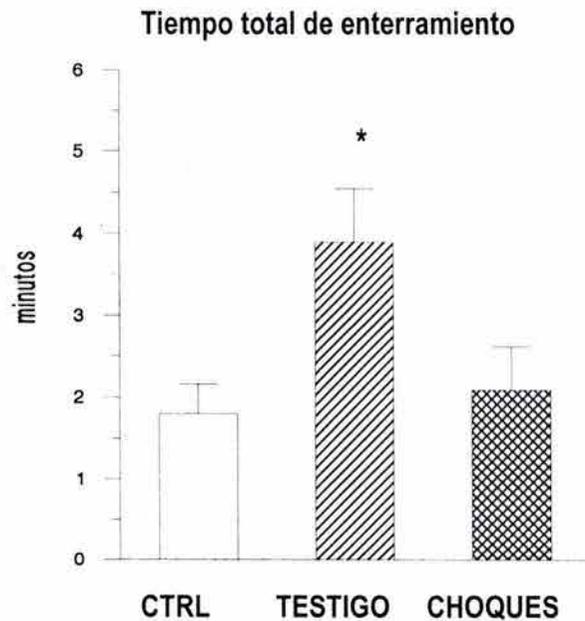


Fig. 9. Efecto del estrés psicosocial sobre el tiempo total de enterramiento. Cada barra representa el promedio de 8-9 animales \pm el error estándar. * $p < 0.05$ vs grupo control (Ctrl), prueba de Dunnett.

6.1.5.3. c) Efecto del diazepam sobre el enterramiento defensivo en ratas testigo-presenciales sometidas a una sesión de estrés psicosocial.

6.1.5.3.1. Prueba de enterramiento defensivo

La comparación entre los grupos testigo-presenciales (dos tratamientos) mostró diferencias significativas en el número de choques eléctricos recibidos ($t = 0.51$, $gl\ 13$, $p < 0.02$) mientras que en la variable latencia al enterramiento no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($t = -0.324$, $gl\ 13$, $p < 0.750$, *NS*), ver tabla 3. Por lo que respecta a la variable tiempo total de enterramiento, se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($t = 2.56$, $gl\ 13$, $p < 0.02$). El grupo testigo-presencial que recibió diazepam desplegó menor tiempo total de enterramiento (50.1 ± 27.2 , $n=8$) al ser comparado con el grupo testigo-presencial que recibió vehículo (141.5 ± 22.2 , $n= 7$), ver fig. 10.

Tabla 3. Enterramiento defensivo. Se encontraron diferencias significativas en el número de choques recibidos pero no en la latencia al enterramiento entre los grupos. *NS*= no significativo; n = número de ratas, $Tp + Vh$, grupo testigo-presencial que recibió vehículo como tratamiento, $Tp + Dz$, grupo testigo-presencial que recibió diazepam como tratamiento; los valores se representan como la media \pm el error estándar.

Grupos	Variables	Número de choques recibidos	Latencia al enterramiento
$Tp + Vh$ ($n= 7$)		4.43 ± 0.2	63.9 ± 22.4
$Tp + Dz$ ($n= 8$)		3.00 ± 0.4	82.2 ± 48.7
		$p < 0.02$	<i>NS</i>

Prueba de enterramiento defensivo

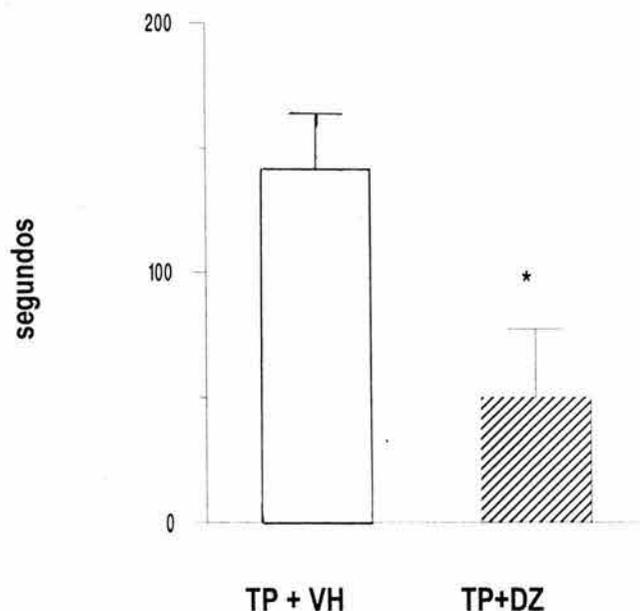


Fig. 10. Efecto del diazepam sobre el tiempo total de enterramiento en animales sometidos a estrés psicosocial. Cada barra representa el promedio de 7-8 animales (\pm el error estándar). * $p < 0.02$ vs grupo Tp+Vh (t-Student). Abrev.: Tp+Vh, grupo testigo-presencial que recibió vehículo como tratamiento; Tp+Dz, grupo testigo-presencial que recibió diazepam.

El análisis de la actividad locomotriz registrada después de la prueba de enterramiento no indicó diferencias significativas en el número de cuadros cruzados desplegado por ambos grupos ($t = -1.11$, $gl\ 13$, $p < 0.287$, NS; tabla 4).

Tabla 4. Prueba de actividad locomotriz. No se encontraron diferencias en la locomoción atribuibles al tratamiento farmacológico con diazepam. NS= no significativo; n= número de ratas, Tp + Vh, grupo testigo-presencial que recibió vehículo como tratamiento, Tp + Dz, grupo testigo-presencial que recibió diazepam como tratamiento; los valores se representan como la media \pm el error estándar.

Grupos	Variables	Número de cuadros cruzados
Tp + Vh (n= 7)		35.3 \pm 4.8
Tp + Dz (n= 8)		42.1 \pm 3.9
		NS

6.1.6. DISCUSIÓN: EXPERIMENTO 1. Estrés psicosocial: efectos ansiogénicos y depresivogénos.

En conclusión, de este primer grupo de experimentos se encontró que las ratas del grupo testigo-presencial desplegaron mayor deambulación y menor inmovilidad en la prueba de nado forzado, así como un incremento significativo en el tiempo total de enterramiento evaluado en el modelo de conducta defensiva de enterramiento, el cual fue revertido por el diazepam.

En este estudio acuñamos el término testigo-presencial, utilizado en derecho jurídico. La palabra testigo proviene del latín *testibus*, que hace referencia a una persona que da fe de la veracidad de algo. Sin embargo, la Ley utiliza la palabra testigo en un sentido amplio para referirse tanto a los sujetos que sirven como un medio de prueba así como a las personas que dan fe o testifican determinados actos presenciales. Un testigo es quien ve, oye o percibe por otro sentido algo del que no es parte y que puede reproducir de palabra, por escrito o por signos, un suceso (Cabanellas, 1968). Por lo expuesto, un testigo puede dar testimonio de sensaciones percibidas por cualquiera de los sentidos. Muchas clasificaciones admiten los testigos en términos de derecho jurídico, una de ellas es la de testigo-presencial, que es aquel que depone sobre dichos o hechos, oídos o vistos por él, acaecidos en su presencia. Por tanto, en el presente estudio, el grupo testigo-presencial estuvo constituido por animales que fueron expuestos a la estimulación auditiva y odorífera emitida por la rata del compartimento contiguo la cual estuvo recibiendo choques eléctricos en las patas. Dado que los dos compartimentos se encontraban divididos por una placa opaca, los animales no pudieron ver al compañero del compartimento contiguo, pero si escucharlo y olerlo.

Asimismo, consideramos la conveniencia de alojar a las ratas en jaulas colectivas. Los ratones son animales altamente territoriales mientras que las ratas son básicamente animales que tienden a vivir en colonias. En general, se reconoce que todos los individuos que integran un grupo tienen un estatus social que se establece en el momento en que se forma el grupo. Esto es muy notable en las ratas que viven en un ambiente natural, dado que tienen un complejo hábitat constituido por túneles bajo un ambiente particular que –por supuesto- raramente se reproduce bajo condiciones de laboratorio. Por ello, la organización social natural de estas especies parece verse influenciada por el aislamiento versus el grupo. Existen evidencias de que las ratas hospedadas individualmente incrementan su agresión intraespecífica, su emocionalidad, así como sus reacciones de escape más que las ratas alojadas en grupos (para mayor revisión consultar Brain y Benton, 1979; Sharp et al., 2002). En este sentido, existen varios estudios que

han evaluado aspectos fisiológicos y conductuales en ratas hospedadas individualmente en contraste con aquellas que han sido hospedadas en grupo. Estos estudios han observado alteraciones en la actividad adrenocortical, en la secreción de hormonas gonadales y modificaciones en los sistemas de neurotransmisión. Se ha asumido generalmente que las ratas que son hospedadas individualmente muestran un síndrome de estrés por aislamiento, caracterizado por una reactividad adrenocortical, como consecuencia de la privación sensorial a la que son sometidas y por ende, su agresividad defensiva incrementa significativamente cuando son nuevamente colocadas con conespecíficos no aislados (Hatch et al., 1965; Valzelli, 1973; Miczek y Winslow, 1987; Nyska et al., 1998). Además se ha reportado que el aislamiento social puede interferir con la comunicación intraespecie modulada por feromonas, ya que los animales aislados también liberan olores que provocan reacciones de evitación en animales que viven en grupos; asimismo, los animales aislados hasta por 15 semanas no responden de manera semejante a como lo hace un animal "normal" ante el olor de animales estresados (Rottman y Snowdon, 1972). Así, en el presente estudio el hecho de que los animales testigo-presenciales cohabitaran con otros testigo-presenciales permitió el reconocimiento de sus conespecíficos, que fueron sometidos a la misma condición de experimentación, sin que existiera la intervención de otro olor ajeno a ellos mientras se encontraron alojados en el bioterio y con ello, disminuir la varianza intragrupa. Esto permitió que durante las sesiones experimentales fueran capaces de discriminar otro olor no familiar y quizás aversivo (olores de los animales del grupo choques). Estos comentarios están apoyados por los trabajos de Todrank y colaboradores (1999) quienes sugieren que las interacciones sociales entre individuos son necesarias para la discriminación de olores entre individuos conocidos al de otros no familiares.

6.1.6.1. Actividad locomotriz en campo abierto

El modelo que se siguió en este experimento implicó el registro de la actividad locomotriz espontánea para evaluar alteraciones motoras inespecíficas que pudieran influir en los cambios observados en la inmovilidad en la situación de nado forzado. Es común utilizar la combinación de estas dos pruebas, dado que el modelo de nado forzado ha sido empleado para el discernimiento de fármacos antidepresivos. Así, un buen fármaco antidepresivo es aquel que disminuye el tiempo de inmovilidad sin afectar la actividad locomotriz o incluso, la puede disminuir (Wieland y Lucki, 1990; Contreras et al., 1998), lo cual ha permitido descartar la posibilidad de que la actividad locomotriz del animal influya sobre la conducta desplegada por el animal cuando es forzado a nadar, como ya ha sido reportado en otros

estudios donde no se encuentra correlación de la actividad locomotriz con la prueba de nado forzado (Alonso et al., 1991).

Los animales que presenciaron las vocalizaciones y los olores emanados por conoespecíficos sometidos a choques eléctricos en las patas manifestaron un estado de inquietud no observado en el resto de los grupos. Algunos investigadores han sugerido que diferentes estresores tienden a elevar la actividad locomotriz de los animales (Lee et al., 1986); sin embargo, si el estresor se prolonga, la locomoción tiende a disminuir (Zacharko y Anisman, 1991). Las ratas del grupo choques no difirieron de las ratas del grupo control en la prueba de actividad locomotriz, aplicada 10 minutos post-estrés. El decremento en la locomoción en animales sometidos a choques eléctricos en las patas ha sido observado después de veinticuatro horas (van Dijken et al., 1992) y en nuestro estudio, la prueba de locomoción fue aplicada 10 minutos después de que los animales pasaron por una primera sesión de choques eléctricos en las patas.

Por otro lado, el estrés psicosocial inducido en los animales del grupo testigo-presencial parece no guardar relación con el tiempo que requiere un estresor físico (choques eléctricos en las patas) para modificar la locomoción. de Souza y Van-Loon (1986), demostraron que el estrés por restricción de espacio incrementa con cierta latencia las concentraciones de dopamina en el hipotálamo sólo 30 minutos después de la aplicación del estrés y no antes. Por su lado, Inoue y colaboradores (1994), han sugerido que la activación de diferentes sistemas de neurotransmisión después del estrés físico (choques eléctricos en las patas) depende de la intensidad del estrés y de la activación de diversas estructuras cerebrales involucradas; por ejemplo, ante una sola sesión de choques eléctricos en las patas (2.5 mA) se incrementa la transmisión dopaminérgica estriatal, mientras que el estrés prolongado genera una activación serotoninérgica en la corteza prefrontal medial.

Dentro de este mismo enfoque, Prado-Alcalá y Quirarte (2002) reportan que cuando un animal es enfrentado a una situación donde su integridad física no se encuentra amenazada, por ejemplo una intensidad baja de un choque eléctrico (0.1 mA) su motivación para evitar esa situación aversiva está disminuida. Pero, si esa misma situación se torna relativamente peligrosa (intensidades intermedias de choques eléctricos 2.5-2.7 mA) se desencadenan aquellos sistemas neuroquímicos indispensables para que el evento se consolide. Por último, si la integridad del individuo se encuentra seriamente amenazada (intensidades altas de choque eléctrico 2.8-3.0 mA), éste se encontraría altamente motivado para ejecutar

una respuesta de evitación. Por tanto, es posible sugerir, que los mecanismos por lo que los dos tipos de estresores empleados en nuestro primer experimento, choques eléctricos en las patas (estrés físico) o estrés psicosocial podrían estar induciendo cambios en la conducta de manera diferencial de acuerdo al significado biológico que tengan esos estímulos para los animales y por ende, las estrategias conductuales desplegadas para afrontar dicho estímulo serán diferentes, por lo que es posible argumentar de nuestro estudio que, la comunicación intraespecífica generada durante la situación experimental en la caja de comunicación parece desempeñar un papel en la modulación de los cambios conductuales observados en el grupo testigo-presencial en un tiempo relativamente breve, si lo comparamos con el grupo choques.

Existen variados argumentos que podrían apoyar esta hipótesis. En primer lugar, la rata es un animal macrosmático (Richardson, 1991) y muchos de sus comportamientos se encuentran modulados por el sistema olfativo. Además, durante situaciones de estrés, los animales emiten en su orina algunas sustancias odoríferas que, al parecer, tienen influencia en el comportamiento de los animales no estresados (Carr et al., 1970; Rottman y Snowdon, 1972; Fanselow, 1985; Abel, 1991ab), sugiriendo que este tipo de comunicación química intraespecífica desempeña un papel importante en la sobrevivencia del grupo.

La orina es uno de los productos más usados en la comunicación química en mamíferos, la cual, dependiendo de su composición y disposición en el ambiente puede actuar como sustancia promotora, liberadora y/o alarmogéna (véase revisión de Gutiérrez-García y Contreras, 2002, **apéndice G**). En este último aspecto, se ha demostrado, que las ratas y ratones despliegan una reacción de huida en respuesta al olor de conespecíficos estresados (Rottman y Snowdon, 1972). Asimismo, cuando un área ha sido impregnada con la orina de una rata estresada físicamente por medio de choques eléctricos en las patas, continúa evocando una reacción de huida por otros animales de la misma especie, inclusive varias horas después (Hornbuckle y Beall, 1974; King et al., 1975). Sin embargo, aun no se ha determinado que tipo de sustancias pudieran estar implicadas en la comunicación intraespecífica en las ratas de laboratorio sometidas a una situación de estrés. MaCkay-Sim (1981) ha argumentado que las ratas sometidas a estresores físicos como los choques eléctricos en las patas, liberan olores en su orina y heces, que al ser percibidos por otros conespecíficos tienden a incrementar la actividad locomotriz de sus conespecíficos. En adición, cuando una rata es colocada en áreas saturadas con olores de conespecíficos que han sido estresados, despliegan reacciones de huida o evitación e incremento de la locomoción en general y

conductas de escalamiento (climbing) hacia las paredes de la caja de prueba sugerentes de una búsqueda de escape, así como conducta vertical (rearing), autoacicalamiento y husmeo (Zalaquett y Thiessen, 1991). En general, se asume que aquellos animales que son sometidos a olores de animales estresados, despliegan conductas activas de escape más que conductas de congelamiento (Zalaquett y Thiessen, 1991); mientras que la repetición de choques eléctricos en las patas provoca un miedo condicionado que facilita respuestas de congelamiento (Inoue et al., 1994). Estos datos concuerdan con lo que observamos en el presente estudio, el cual nos indica que los animales que presencian una situación de castigo de un conoespecifico incrementan su locomoción después de los primeros 10 minutos.

Es importante tomar en cuenta la participación que las vocalizaciones pudieran haber desempeñado en la situación psicosocial inducida en la caja de comunicación en una sola sesión. Las ratas emiten vocalizaciones cuyas frecuencias no son audibles para el ser humano. Estas vocalizaciones "ultrasónicas", son emitidas en un rango de 22 a 28 KHz. Cuando las ratas de laboratorio son expuestas a estímulos nocivos o dolorosos evocan chillidos que son audibles al oído humano; pero también, pueden emitir en paralelo vocalizaciones ultrasónicas antes y después de la exposición a la estimulación, por lo que parecen desempeñar un papel importante para comunicar al grupo la presencia de un estímulo potencialmente peligroso (Miczek et al., 1991). Consideramos que es necesario aislar cada una de estas modalidades sensoriales, para determinar en que grado cada una ellas estaría participando en el incremento de la actividad locomotriz observada en los animales sometidos a este tipo de estrés psicosocial, o bien diseñar otro experimento en el que se tenga la certeza de que solo participa uno de los dos sistemas sensoriales posiblemente involucrados, olfatorio o auditivo. Asimismo, la evaluación de otras conductas desplegadas durante el registro de la actividad locomotriz, podría ayudar a entender las diferencias encontradas en esta prueba. Entre las conductas a evaluar podrían mencionarse al acicalamiento, a la conducta vertical, al husmeo y a la inmovilidad (ver **apéndice H**).

6.1.6.2. Prueba de nado forzado

En el presente estudio, se esperaba que las situaciones de estrés a las que fueron sometidos los animales les condujera a un estado de desesperanza, evaluado mediante el aumento de la inmovilidad en la prueba de nado forzado (Porsolt et al., 1977; 1991). Sin embargo, lo que se observó fue lo contrario. Diversos compuestos antidepresivos y algunos agentes hormonales y aun la elevación fisiológica de

hormonas gonadales, reducen la inmovilidad en la prueba de nado forzado (Martínez-Mota et al., 1999; Contreras et al., 2000). Por otro lado, es importante la exposición a la pre-prueba en el nado forzado para que los antidepresivos ejerzan sus efectos anti-inmovilidad (Borsini et al., 1989). No obstante, los tratamientos y situaciones en las que se produce una disminución de la inmovilidad poco o nada tienen que ver con cambios en la actividad locomotriz (Wieland y Lucki, 1990), por el contrario, la mayor parte de los antidepresivos eficaces clínicamente reducen la inmovilidad, es decir aumentan el tiempo de nado, mientras que reducen la actividad locomotriz lo que se interpreta como un aumento de la motivación por escapar a la situación de emergencia que representa el ser forzado a nadar (Contreras et al., 1998; 2001). Entonces en una condición estresante sería de esperarse que ocurriera una situación semejante al congelamiento, con una disminución de la actividad locomotriz y un aumento en la inmovilidad (ó disminución del tiempo de nado). Pero, tal sería el caso al tratarse de la evaluación de un estado de desesperanza inducido por el estrés. En caso de que lo que pudiera estar ocurriendo fuera un aumento del estado de ansiedad mediado por algún tipo de comunicación emocional sea esta auditiva u olfativa, lo que se esperaría encontrar es precisamente un aumento de la actividad locomotriz que podría repercutir en el tiempo de nado. Aparentemente, esto fue lo que ocurrió, ya que se observó en ambos grupos experimentales una tendencia a disminuir la latencia a la primera inmovilidad y a aumentar el tiempo de nado, reduciéndose la inmovilidad. Todo ello en concurrencia con un aumento de la actividad locomotriz, sugiriendo así un aumento de la ansiedad en los animales testigo-presenciales.

La exposición previa a un estresor también puede causar un decremento de la inmovilidad en el nado forzado. Platt y Stone (1982) reportaron que la restricción del espacio por 2.5 h durante 11 días o una sola restricción con una duración de 2.5 h decrementa el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Por su parte, Borsini y colaboradores (1989) emplearon varios estresores, por ejemplo, restricción de espacio, frío o choques eléctricos en las patas, 24 h antes de someter a los animales a nadar forzadamente durante 5 minutos. Con estos estresores se sustituyó la pre-prueba de nado que de acuerdo a Porsolt y colaboradores (1977) tiene la finalidad de inducir la desesperanza conductual. Borsini y su grupo (op.cit.) determinaron la importancia de estos estresores o de la pre-prueba para que los fármacos antidepresivos induzcan sus efectos anti-inmovilidad. Sin embargo, ellos no analizaron sus datos específicamente con respecto a los efectos de estos estresores sobre la inmovilidad, pero si uno inspecciona sus gráficas, éstas sugieren que la pre-exposición a estos estresores también reduce la

duración de la inmovilidad con respecto a aquellos animales que nos han sido sometidos previamente a ningún estresor.

Asimismo, Abel y Bilitzke (1990) reportaron que la aplicación de diferentes estresores como los choques eléctricos en las patas, el ruido o la manipulación, pueden también decrementar de manera significativa la inmovilidad en la prueba de nado forzado. Incluso, los únicos estudios que refieren un decremento en la inmovilidad por la participación de posibles sustancias de alarma en el caso de la prueba de nado forzado, son los de Abel y Hannigan (1992), quienes han sugerido que las ratas pueden desplegar un decremento en la inmovilidad cuando no se cambia el agua del estanque entre una prueba y otra, es decir entre una rata y otra. Dicho efecto se mantiene aún cuando el agua que contiene la supuesta sustancia de alarma se diluye hasta un 25% y permanece activa aún después de ocho días de haber sido liberada (Abel, 1991ab). Este grupo apoya la idea de que la inmovilidad en la prueba de nado forzado, más que representar una desesperanza conductual constituye una respuesta de afrontamiento al estrés, dado que ellos observaron que aquellos animales que son forzados a nadar en agua limpia durante un periodo de 7 días incrementan de manera gradual la inmovilidad (Abel y Bilitzke, 1990). Por lo tanto, la disminución de la inmovilidad en las ratas que nadan en un estanque donde previamente han nadado otras, se debe a un estado de ansiedad o miedo favorecido por la presencia de una sustancia de alarma de baja volatilidad presente en el agua (Abel, 1991a).

Sin embargo, estos estudios difieren del nuestro, dado que nosotros cambiamos el agua del estanque entre una y otra rata. Lo cual indica que los cambios en la inmovilidad desplegada por los animales del grupo testigo-presencial se deben al estrés psicosocial previo al nado y no a una sustancia de alarma emitida durante el nado forzado. Por tanto, y de acuerdo con estos hallazgos, es posible sugerir que en nuestro estudio, el incremento del nado aunado al incremento de la actividad locomotriz en las ratas testigo-presenciales parece constituir una respuesta de escape, similar a la respuesta de huida que exhiben los animales que son sometidos a otros contextos en donde están presentes feromonas de alarma (Hornbuckle y Beall, 1974); por ejemplo, las respuestas de escape que exhiben las ratas cuando se les introduce en un área que previamente fue ocupada por otras ratas estresadas por choques eléctricos en las patas (Carr et al., 1970; King et al., 1975; MaCkay-Sim, 1980).

En efecto, varios reportes indican que las ratas expuestas al olor de conespecíficos estresados muestran reacciones de evitación (Müller-Velten et al., 1966 ref. en Rottman y Snowdon, 1972; Carr et al., 1970; Rottman y Snowdon, 1972; Hornbuckle y Beall, 1974; King et al., 1975; Zalaquett y Thiessen, 1991) y un incremento generalizado de la locomoción (MaCkay-Sim, 1981; Zalaquett y Thiessen, 1991). Resumiendo, pareciera entonces que los animales desarrollaron un alertamiento inducido por el olor de conespecíficos estresados, así como un incremento de ciertos comportamientos activos como lo son la búsqueda de escape, el husmeo, la conducta vertical, entre otros, que promueven una información adicional que favorece la exploración del animal para determinar el origen y el daño potencial del olor, por lo que de ser necesario habrá que evitarlo o escapar de él y alertar al resto del grupo de la presencia de un estímulo potencialmente peligroso, como parte de un mecanismo estratégico para la sobrevivencia del grupo. Debido a que en este primer experimento no aislamos las vocalizaciones tanto audibles como ultrasónicas emitidas por los animales que recibieron choques eléctricos en las patas, podríamos añadir que el olor emitido por este grupo de animales más las vocalizaciones podrían constituir una estrategia para alertar al grupo de un daño potencial. Por lo anterior, en la prueba de nado forzado es posible observar una disminución de la inmovilidad como respuesta a un fármaco, pero también como reflejo de expectancia aumentada, indicadora quizás de ansiedad.

Luego entonces, la estimulación aversiva conduce a los organismos a desplegar conductas dirigidas a escapar o a evitar esa estimulación, entonces se podría aceptar que esas conductas en cierta forma son motivadas y por tanto, la estimulación odorífera y auditiva estaría favoreciendo un estado motivacional (Prado-Alcalá y Quirarte, 2002) manifestado por medio un decremento de la inmovilidad en la prueba de nado forzado aunado al incremento de la actividad locomotriz. En el caso del grupo choques, también observamos un decremento significativo de la inmovilidad, sin embargo no observamos cambios en la actividad locomotriz al ser comparados contra el grupo control, lo cual sugiere que los mecanismos que podrían estar modificando estas conductas en ambos grupos podrían ser diferentes. Así, cuando el daño no existe, o simplemente el escapar del olor (más vocalizaciones) es imposible, entonces el animal tiende a mostrar estrategias para conservar la energía y reducir la reactividad provocada por el olor y sobrevivir a la situación (Zalaquett y Thiessen, 1991), ilustrando así el papel de la ansiedad como un proceso adaptativo (Uriarte, 1992); sin embargo, desconocemos lo que sucede cuando este tipo de comunicación intraespecífica se mantiene de manera prolongada y el individuo no tiene opción de desplegar reacciones de huida ni de evitación, quizás conduciendo al animal a un abatimiento generalizado

del comportamiento y abandonando todo intento de sobrevivencia al grado de caer en un estado de desesperanza caracteriza por un estado amotivacional, una posibilidad nunca antes explorada.

6.1.6.3. Prueba de enterramiento defensivo

De acuerdo con los resultados obtenidos en el experimento 1b, parece ser que en el animal que presencia una comunicación sensorial proveniente de aquel compañero que está siendo sometido a un castigo, el incremento en el despliegue del enterramiento es sugerente de ansiedad. En consistencia, Ichikawa y colaboradores (1992) reportaron que se puede llegar a inducir ansiedad experimental por medio de un método basado en una comunicación emocional, semejante a la empleada en el presente experimento. Este grupo de investigadores ya habían reportado que aquellos animales sometidos a la comunicación olfativa, auditiva y visual proveniente de aquellos animales que reciben choques eléctricos en las patas, además de sufrir de úlceras gástricas muestran un incremento significativo de los niveles de corticosterona plasmática, todo lo cual es sugerente de ansiedad.

Por tanto, una sola sesión de estrés psicosocial genera un estado de ansiedad en los animales testigo-presenciales. En la prueba de enterramiento defensivo los ansiolíticos como el diazepam (Treit et al., 1982; 1985), los antidepresivos que poseen propiedades ansiolíticas como la imipramina y la desmetilimipramina (Martínez-Mota et al., 2000), algunos agentes esteroideos (Picazo y Fernández-Guasti, 1993; Picazo et al., 1995; Picazo, 1996; Picazo y Roldán, 1996; Fernández-Guasti et al., 1999; Martínez-Mota et al., 2000) y algunos agentes agonistas del receptor 5HT_{1A} (Picazo et al., 1995; Picazo y Roldán, 1996) disminuyen el tiempo total de enterramiento, lo que pone en evidencia la inducción de ansiólisis. Inclusive, se considera que un ansiolítico es óptimo, cuando reduce el enterramiento sin modificar la latencia o reactividad del animal, un efecto que puede ser obtenido con dosis de 1-2 mg/Kg de diazepam (Treit et al., 1982; Treit, 1985). Por otro lado, la ansiedad desplegada en estas situaciones de estrés psicosocial también puede ser revertida por fármacos con propiedades ansiolíticas como el diazepam (Kaneyuki et al., 1991). Al respecto, se ha sugerido que el estrés psicosocial selectivamente modifica la neurotransmisión dopaminérgica mesoprefrontal y que el diazepam posee un efecto inhibitorio sobre la activación de este sistema de neurotransmisión al actuar sobre receptores GABAérgicos. En consistencia, se ha determinado que las benzodiazepinas disminuyen la ansiedad al facilitar la acción del neurotransmisor GABA en el sistema nervioso central, actuando sobre receptores GABAérgicos específicos, ocasionando una mayor apertura de los canales del ion Cl⁻.

Con respecto al número de choques recibidos durante la prueba de enterramiento defensivo, encontramos un decremento significativo en el número de choques recibidos en aquellos animales testigo-presenciales a los que se les administró diazepam. Hace tiempo que Treit (1985) reportó que los efectos supresivos del diazepam sobre el enterramiento no se deben a un efecto analgésico dado que la aplicación de naloxona, un antagonista de receptores a opioides, no revierte el efecto inducido por el diazepam. Así mismo, el decremento del tiempo total de enterramiento no puede ser atribuido a una reducción de la reactividad de los animales ante estímulos dolorosos, dado que el diazepam no ejerce ningún efecto sobre la latencia para escapar de un estímulo doloroso inducido por calor. En consistencia, en este trabajo observamos que la dosis de 1.0 mg/Kg de diazepam es efectiva para reducir el tiempo total de enterramiento de animales testigo-presenciales, sin modificar la latencia o reactividad ni la actividad locomotriz de aquellas ratas que fueron expuestas a una situación de estrés psicosocial mediada por una comunicación odorífera y auditiva emitida por un compañero sometido a estrés físico, lo que valida el hallazgo previo de que el presenciar las reacciones emocionales que emite otro animal que recibe un castigo es suficiente como inductor de ansiedad, sin que sea necesario recibir de manera directa un estresor físico como los choques eléctricos, de modo que es posible que en el estrés psicosocial exista una forma de comunicación. Consideramos que podría ser química y es muy posible que exista una sustancia en la orina de las ratas que son sometidas a choques eléctricos en las patas y a la cual responde el testigo-presencial, dado que el sistema olfativo es un importante medio de comunicación entre los roedores.

Llama la atención el hecho de que los animales del grupo choques, no hayan diferido en sus niveles de ansiedad con respecto al grupo control. Se ha descrito que la gama de conductas exhibidas por los animales en el paradigma de enterramiento defensivo se relaciona con factores como la intensidad del choque y la altura de la cama de viruta. Un choque eléctrico de intensidad mayor a 3.0 mA inhibe la exploración e induce la conducta de congelamiento (freezing), obstaculizando así la expresión del enterramiento. De la misma manera, la reducción de la altura de la cama de viruta o su ausencia genera reacción de congelamiento (de Boer et al., 1991). En nuestro modelo, la cama de viruta tuvo una altura considerable (aproximadamente 5 cm) y los animales recibieron choques eléctricos de baja intensidad lo que favoreció el despliegue óptimo del enterramiento. Sin embargo, quizás el hecho de haber sometido a nuestros animales del grupo choques a la previa estimulación eléctrica de 1.0 mA durante 10 minutos, haya sido suficiente para enmascarar el enterramiento en esta prueba. Incluso, aunque estos datos no fueron

mostrados, el 100 % de las ratas del grupo control y testigo-presencial desplegaron el enterramiento, mientras que sólo el 80% de las ratas del grupo choques lo desplegaron. Las ratas que recibieron choques eléctricos en las patas y que fueron eliminadas del análisis de datos, desplegaron congelamiento durante los 10 minutos de la prueba de enterramiento defensivo. Nuevamente, es necesario revisar cuidadosamente otras conductas que pudieran explicar por qué el grupo choques no difiere en estas pruebas conductuales cuando son comparados con animales control. Sin embargo, como se menciona en el **apéndice H** las conductas desplegadas por ambos grupos de animales podría responder a diferentes estrategias para enfrentar la situación aversiva a la que están siendo expuestos en demanda del significado biológico del estímulo.

El modelo de enterramiento defensivo ha sido también empleado para investigar estrategias de enfrentamiento. Koolhaas y colaboradores (1999) sugirieron que en esta prueba se podría evaluar los estilos de afrontamiento que tiene un animal frente a un estímulo novedoso o aversivo. Los animales pueden desplegar respuestas proactivas (enterramiento) o respuestas reactivas (inmovilidad). Los animales reactivos muestran poco enterramiento hacia la barra electrificada y altos periodos de inmovilidad. Piljman y van Ree (2002) reportaron que los animales que reciben choques eléctricos en las patas (0.25 mA, 1 seg) muestran inicialmente inmovilidad en la prueba de enterramiento defensivo, sin embargo no difieren en el tiempo total de enterramiento al compararlos con animales control. Por tanto, se requiere investigar los efectos que ambos estresores podrían generar bajo estas circunstancias, quizás empleando otros modelos conductuales que pudieran detectar las diferencias en los niveles de ansiedad y la manera en que se expresa ante dos diferentes tipos de estresores.

En el presente experimento, el estrés psicosocial inducido en nuestra caja de comunicación produjo un aumento del tiempo de enterramiento, lo cual es sugerente de ansiedad. Lo que resulta más notable es que tal aumento ocurrió en el grupo testigo-presencial el cual solamente fue sometido a la estimulación sensorial proveniente del sujeto sometido a choques inescapables. Es decir, no recibió más que los mensajes auditivos y odoríferos provenientes de su compañero experimental. Esta observación, explicaría el hecho de que se haya encontrado una reducción de la inmovilidad e incremento de la locomoción en el experimento 1ab, ya que, efectivamente lo que está produciendo la manipulación experimental es un estado ansioso más que uno de desesperanza, por lo menos para la presentación a la situación experimental en una sola sesión. La observación del experimento 1b quedó confirmada dado que

la dosis de 1mg/Kg de diazepam redujo el tiempo total de enterramiento (experimento 1c). Sin embargo, nos es desconocido lo que podría ocurrir ante una situación de exposición repetida a la misma situación estresante, lo cual amerita otro tipo de diseño experimental. Y finalmente, es necesario determinar los correlatos electrofisiológicos de estos hallazgos.

En conclusión, es posible sugerir que el incremento de la actividad locomotriz y el decremento de la inmovilidad en la prueba de nado forzado en las ratas de nuestro estudio reflejen un estado de ansiedad verificado a través de la prueba de enterramiento defensivo y su reversión por diazepam. Esta ansiedad quizá esté mediada por una señal química presente en la orina de los animales sometidos a choques eléctricos en las patas, dado que existen varios antecedentes que así lo sugieren; aunque, no podemos descartar la participación que pudiera tener la presencia de las vocalizaciones audibles y ultrasónicas en la ansiedad desplegada por los animales del grupo testigo-presencial. Sin embargo, el sistema olfativo de la rata desempeña un papel importante en muchos aspectos de su comportamiento y una de sus funciones principales es la comunicación intraespecífica como un medio de conservar la homeostasis del grupo, por lo que proponemos que una rata macho al ser sometida a un estresor físico como lo son los choques eléctricos en las patas secreta en su orina algún tipo de sustancia química que se percibe en su entorno. Así la rata que presencia (grupo testigo-presencial) dicho estrés físico, pero que no lo recibe, asocia esa sustancia química con la situación de estrés psicosocial (vocalizaciones y saltos), lo cual a su vez desencadena a corto plazo un estado de ansiedad que se genera cuando los individuos enfrentan una situación potencialmente peligrosa, por lo que los cambios observados en la actividad locomotriz, en el nado forzado y en el enterramiento defensivo podrían ser considerados como mecanismos de alerta o de alarma, mediados por una comunicación emocional intraespecífica eficaz e inmediata.

6.2. EXPERIMENTO 2: Efecto de la exposición diaria (10 minutos, 35 días) de los olores provenientes de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas sobre la inmovilidad en la prueba de nado forzado.

6.2.1. Antecedentes

En la investigación básica, los modelos animales han sido útiles para reproducir algunos hallazgos de la clínica. Al comparar los diversos modelos animales hasta hoy diseñados y tomando en cuenta los criterios de validación que reúnen, cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas que representan para el investigador distintas alternativas para estudiar las bases fisiopatológicas del síndrome depresivo. Así, se sugiere el uso de estímulos que, siendo desencadenantes de desesperanza, ocurran de manera más natural y cotidiana en la vida de los individuos vulnerables para poder estudiar las estrategias conductuales que se emiten en una interacción social de conflicto. Los hallazgos encontrados en investigación básica han permitido proponer que el estrés psicosocial constituye uno de los factores que predisponen al individuo a desarrollar trastornos del estado de ánimo (Gutiérrez-García y Contreras, 2000, **apéndice B**). Sin embargo, en los modelos de estrés psicosocial no se ha abordado aun la posibilidad de que las señales odoríferas emitidas durante la situación social de conflicto sean capaces a largo plazo de desencadenar desesperanza y de ser el caso, ser revertida con un antidepresivo tricíclico como la imipramina, cuyo efecto antidepresivo ha sido demostrado tanto en el humano como en diversos modelos animales, incluyendo los modelos de estrés psicosocial por derrota (Kudryavtseva et al., 1991).

6.2.2. Grupos experimentales y tratamiento

Se formaron seis grupos, tres de ellos recibieron una dosis de 2.5 mg/Kg de imipramina (IMI) durante 14 días después de 21 días de prueba conductual; mientras que los tres grupos restantes recibieron el mismo régimen, pero con otra dosis del tricíclico (5.0 mg/kg). Estos grupos tuvieron las mismas características que fueron descritas en el experimento 1. Veinticuatro horas después de una sesión de 5 minutos de habituación, cada una de las ratas que integraron el grupo choques (n=8, para el grupo choques 2.5 mg/Kg y n=8, para el grupo choques 5.0 mg/Kg IMI) fueron colocadas en el compartimento electrificado de la caja para recibir durante 10 minutos, 40 choques por minuto (1mA corriente directa, 0.5 s), diariamente durante 35 días. Pasados los 10 minutos de estimulación eléctrica, cada rata fue retirada y

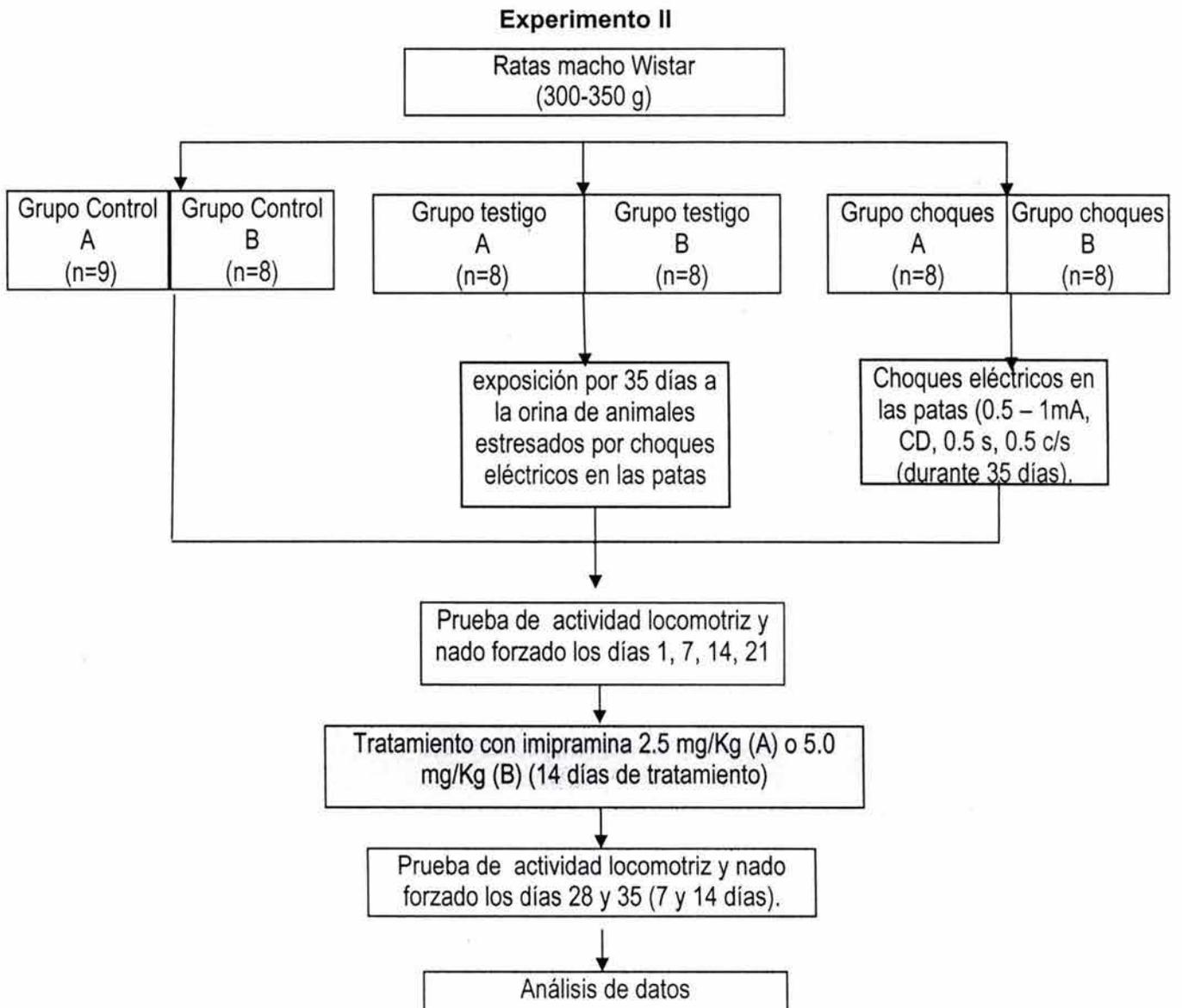
devuelta al bioterio de estancia. Posteriormente, cada una de las ratas del grupo testigo (n=8 para el grupo testigo 2.5 mg/Kg IMI y n=8 para el grupo testigo 5.0 mg/Kg), fueron colocadas durante 10 minutos en el compartimento seguro de la caja de comunicación de dos compartimentos igualmente descrita en el experimento 1. Estas ratas no recibieron choques, pero fueron expuestas a la estimulación olfativa emanada por la rata del grupo choques, en un periodo de 35 días. Así, el grupo testigo solo recibió el estímulo olfativo y se evitó la estimulación auditiva proveniente de la rata que recibió choques. El grupo control (n=9, para el grupo control 2.5 mg/Kg y n=8 para el grupo control 5.0 mg/Kg), sólo fue colocado en el compartimento seguro de la caja de comunicación durante los mismos 35 días sin ser expuesto a estimulación sensorial alguna. Cada una de las ratas de los grupos antes mencionados fue sometida a la prueba de actividad locomotriz y nado forzado los días 1, 7, 14, 21. Después de la sesión 21, todos los animales recibieron una inyección diaria de imipramina (2.5 mg/Kg o 5.0 mg/Kg, i.p.) y fueron nuevamente evaluados en la prueba de actividad locomotriz y nado forzado los días 28 y 35 de prueba (7 y 14 días después de iniciado el tratamiento farmacológico).

6.2.3. Análisis de datos

Se decidió analizar los datos obtenidos de las pruebas conductuales empleando un ANOVA de dos vías considerando como primer factor la manipulación experimental, es decir, al grupo al que pertenecían los animales: control, testigo-presencial y choques; y como segundo factor, se consideró el tratamiento farmacológico con IMI (2.5 mg/Kg y 5.0 mg/Kg). Este primer análisis tuvo como finalidad llevar a cabo un análisis global de los resultados y determinar una posible interacción entre las manipulaciones experimentales y el tratamiento con IMI. De esta manera, cuando se encontraron significancias de $p \leq 0.05$ se hicieron múltiples comparaciones utilizando la prueba de Student-Newman-Keuls. Una vez realizado el análisis global de los datos, se utilizó una ANOVA de una vía para muestras repetidas para llevar a cabo un análisis intragrupo para cada una de las condiciones experimentales durante los 21 días de manipulación antes de que los animales recibieran cualquier tratamiento farmacológico. Este análisis tuvo como finalidad determinar en que medida las diferentes maniobras conductuales: control (grupo sham, sometido a la caja de comunicación sin ningún tipo de estimulación), estrés psicosocial (grupo testigo-presencial) y estrés físico (grupo choques) modificaban los parámetros evaluados en las pruebas conductuales. Se aplicó como *post-hoc* la prueba de Dunnett para comparar las diferentes sesiones contra el primer día de prueba conductual. Posteriormente, se utilizó la prueba t de Student para comparar los grupos de 2.5 mg/Kg IMI

con los de 5.0 mg/Kg IMI a los 7 y 14 días después de iniciado el tratamiento farmacológico, así como contra el primer día de prueba, donde el animal todavía no recibía ningún tratamiento. Este último análisis tuvo como finalidad determinar los efectos anti-inmovilidad de la IMI en la prueba de nado forzado ante cada una de las manipulaciones conductuales.

6.2.4. Diagrama de trabajo



6.2.5. RESULTADOS

6.2.5.1. Actividad locomotriz

6.2.5.1.1. Análisis global de la actividad locomotriz

El análisis de varianza de dos vías indicó diferencias significativas entre los grupos. El factor manipulación experimental resultó significativo ($F:2,285= 8.3, p<0.0003$). Así, los animales que integraron el grupo choques desplegaron un menor número de cuadros cruzados ($n= 16, p<0.05$) al ser comparados contra el grupo control ($n=17$) y grupo testigo-presencial ($n=16$), independientemente del tratamiento farmacológico con IMI. Por otro lado, el factor tratamiento farmacológico también ilustró diferencias significativas ($F:2,285= 47.95, p<0.0001$) sin que la interacción entre los dos factores resultase significativa ($F:3,285=0.44, p<0.777, NS$). De esta manera, la dosis de 2.5 y 5.0 mg/Kg de IMI redujeron la actividad locomotriz de los tres grupos independientemente de la maniobra conductual. Es decir, la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI ($n=16$) redujo el número de cuadros cruzados un 26.15% en los tres grupos al compararse contra los 21 días de prueba conductual en donde los animales no recibieron ningún tratamiento farmacológico; mientras que la dosis de 5.0 mg/kg de IMI ($n=16$) redujo hasta un 53.31% la actividad locomotriz en los tres grupos al compararse con los 21 días de prueba conductual (ver fig. 11).

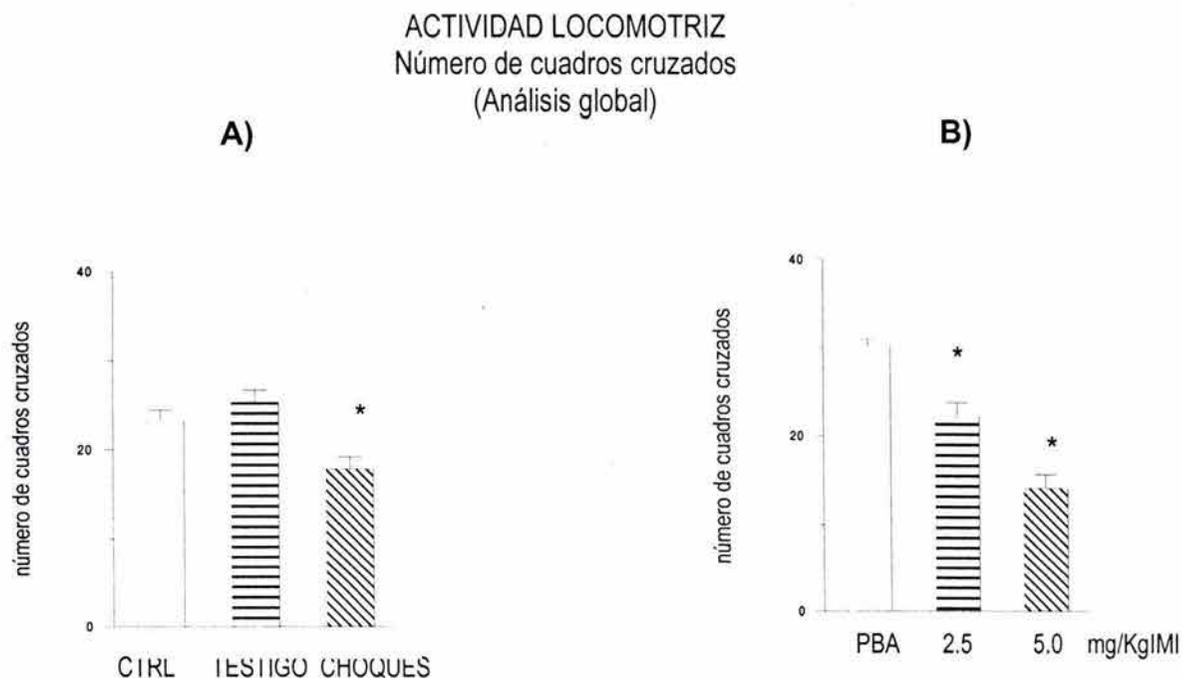


Fig. 11. Actividad locomotriz: número de cuadros cruzados. A) El grupo choques desplegó el menor número de cuadros cruzados al compararlo con el grupo control y el grupo testigo ($p<0.05$). B) La IMI en dosis de 2.5 mg/Kg y 5.0 mg/Kg redujo significativamente la actividad locomotriz de los tres grupos de animales al compararlo contra los 21 días de prueba conductual (PBA, $p<0.05$), independientemente de cualquier maniobra experimental. Se representa la media \pm error estándar.

Se compararon los datos de cada una de las sesiones de prueba de los grupos que recibieron 2.5 mg/Kg de IMI contra los que recibieron 5 mg/Kg de IMI en el día 1, 7, 14 y 21 para cada una de las condiciones experimentales y antes de iniciar el tratamiento con IMI: control, testigo-presencial y choques, utilizando la prueba t de Student. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de 2.5 mg/Kg y los grupos de 5.0 mg/Kg IMI en el número de cuadros cruzados durante los 21 días de prueba (ver tabla 5) para cada una de las maniobras conductuales. Lo cual nos indicó que ambos grupos que integraron cada una de las tres condiciones conductuales se comportaron de manera similar durante los 21 días de prueba y nos permitió descartar diferencias intergrupo que pudieran haber influido en los resultados obtenidos una vez iniciado el tratamiento farmacológico en cada una de las situaciones experimentales. Por este motivo, se decidió juntar ambos grupos para cada una de las condiciones durante los 21 días de prueba conductual y realizar así, las comparaciones correspondientes con respecto a los días en que los animales recibieron IMI.

Tabla 5. Actividad locomotriz. Número de cuadros cruzados. No se observaron diferencias significativas intergrupo para cada una de las condiciones experimentales durante los 21 días de prueba. n, número de ratas; IMI, imipramina; los datos se representan como la media \pm el error estándar.

		Condición experimental					
		Actividad locomotriz: número de cuadros cruzados					
		Control		Testigo-presencial		Choques	
Registro conductual \ Dosis	2.5 mg/Kg n=9	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/K n=8	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/Kg n=8	5.0 mg/Kg n=8	
Día 1	21.1 \pm 3.9	31.3 \pm 3.1	23.1 \pm 3.6	28.5 \pm 2.7	29.3 \pm 4.4	39.5 \pm 5.7	
Día 7	36.0 \pm 4.2	44.1 \pm 5.0	28.5 \pm 2.4	34.6 \pm 2.3	30.6 \pm 4.0	19.1 \pm 4.0	
Día 14	33.0 \pm 2.1	32.8 \pm 2.3	30.6 \pm 3.7	37.8 \pm 2.8	24.9 \pm 4.4	20.5 \pm 4.7	
Día 21	27.3 \pm 2.5	28.9 \pm 2.9	34.3 \pm 3.3	37.4 \pm 5.8	30.8 \pm 5.1	20.9 \pm 4.0	

6.2.5.1.2. Análisis intragrupo de la actividad locomotriz durante los 21 días de prueba

El análisis de una vía para muestras repetidas indicó diferencias significativas intragrupo en el grupo control durante los 21 días de prueba ($F:3,64= 9.0$, $p<0.00007$), encontrándose un incremento significativo del número de cuadros cruzados en el día 7 de prueba ($p<0,05$) con respecto al primer día. También se encontraron diferencias significativas intragrupo para el grupo testigo ($F:3,60= 5.10$, $p<0.003$), con un incremento significativo del número de cuadros cruzados los días 14 ($p<0.05$) y 21 ($p<0.05$) con respecto al primer día de prueba. Por otro lado, en el análisis intragrupo para el grupo choques se encontraron diferencias significativas en el número de cuadros cruzados de acuerdo al número de sesiones ($F: 3, 45 = 4.30$, $p<0.009$). El análisis *post-hoc* de Dunnet mostró diferencias significativas en el día 7, 14 y 21 ($p<0.05$) con respecto al primer día de prueba, ver fig. 12. En síntesis, la actividad locomotriz de los animales se modificó de manera diferencial en cada una de las condiciones conductuales a la que los diferentes grupos fueron sometidos.

6.2.5.1.3. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico

Grupo control

Se realizaron comparaciones entre el primer día de prueba conductual y los de tratamiento farmacológico. Se encontró que en el grupo control, la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI no modificó el número de cuadros cruzados ni a los 7 (día 28, $t=0.545$, gl 4, $p<0.590$, *NS*), ni a los 14 días de tratamiento (día 35, $t=1.21$, gl 4, $p<0.239$, *NS*) comparándolo con el día 1 de prueba. Sin embargo, la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI redujo de manera significativa el número de cuadros cruzados en los animales del grupo control desde los primeros 7 días de tratamiento (día 28, $t=2.58$, gl23, $p<0.01$) y se mantuvo al día 14 después de iniciado el tratamiento (día 35, $t=3.00$, gl 23, $p<0.006$, fig. 12). Las comparaciones entre los grupos control y aquellos animales que recibieron una dosis de IMI de 2.5 mg/Kg contra los que recibieron 5.0 mg/Kg fueron significativas. La dosis de 5.0 mg/Kg (15.1 ± 2.93) redujo de manera significativa el número de cuadros cruzados en el grupo control a partir de los 7 días de tratamiento ($t=2.58$, gl 15, $p<0.02$) al compararlo con la dosis de 2.5 mg/Kg IMI; de igual forma, a los 14 días de tratamiento la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI redujo de manera significativa ($t=2.49$, gl 15, $p<0.02$) el número de cuadros cruzados (14.4 ± 1.29) con respecto a la dosis 2.5 mg/Kg (21.6 ± 2.46).

Grupo testigo

De manera similar al grupo control, en el grupo testigo la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI no modificó el número de cuadros cruzados por los animales ($t=-0.839$, gl 2, $p<0.410$, *NS*) ni a los 7 (29.0 ± 2.83) ni a los 14 días de tratamiento (23.4 ± 2.31) al compararlo contra el primer día de prueba. Tampoco, la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI redujo el número de cuadros cruzados ($t=1.36$, gl 2, $p<0.186$, *NS*) a los 7 días de tratamiento (20.6 ± 2.85) con respecto al primer día de prueba conductual (25.8 ± 2.28). Sin embargo, esta misma dosis a los 14 días de tratamiento (16.0 ± 2.71) redujo de manera significativa ($t=2.61$, gl 22, $p<0.01$) el número de cuadros cruzados con respecto al primer día de prueba (25.8 ± 2.28). La dosis de 5.0 mg/Kg de IMI redujo de manera significativa el número de cuadros cruzados en los animales testigo-presenciales al compararse con la dosis de 2.5 mg/kg de IMI a los 7 ($t=2.09$, gl 14, $p<0.05$) y a los 14 días después de iniciado el tratamiento farmacológico ($t=2.07$, gl14, $p<0.05$), ver fig. 12.

Grupo Choques

La dosis de 2.5 mg/Kg redujo de manera significativa el número de cuadros cruzados en el grupo choques a los 7 (17.0 ± 2.59 ; $t=3.09$, gl 22, $p<0.005$) y a los 14 días (18.3 ± 3.89 ; $t=2.70$, 22 gl, $p<0.01$) de haber empezado el tratamiento farmacológico al ser comparada contra el primer día de prueba (34.4 ± 3.7). Asimismo, la dosis de 5.0 mg/Kg redujo el número de cuadros cruzados a los 7 (11.6 ± 3.52 ; $t=3.88$, gl 22, $p<0.0008$) y 14 días de tratamiento (6.63 ± 1.92 ; $t=5.05$, gl 22, $p<0.0001$) al compararse contra el primer día de prueba (34.4 ± 3.7). Sin embargo, no se observaron diferencias atribuibles a la dosis empleada del fármaco a los 7 días de tratamiento ($t=1.23$, gl 14, $p<0.239$, *NS*) pero si a los 14 días ($t=2.68$, gl 14, $p<0.01$, fig. 12).

En síntesis, la actividad locomotriz de los animales sometidos a cada una de las condiciones conductuales se modificó de manera diferencial y la dosis más alta de IMI (5.0 mg/Kg) redujo de manera significativa el número de cuadros cruzados en todos los grupos experimentales independientemente de cualquier maniobra conductual.

ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ (ANÁLISIS INTRA E INTERGRUPO)

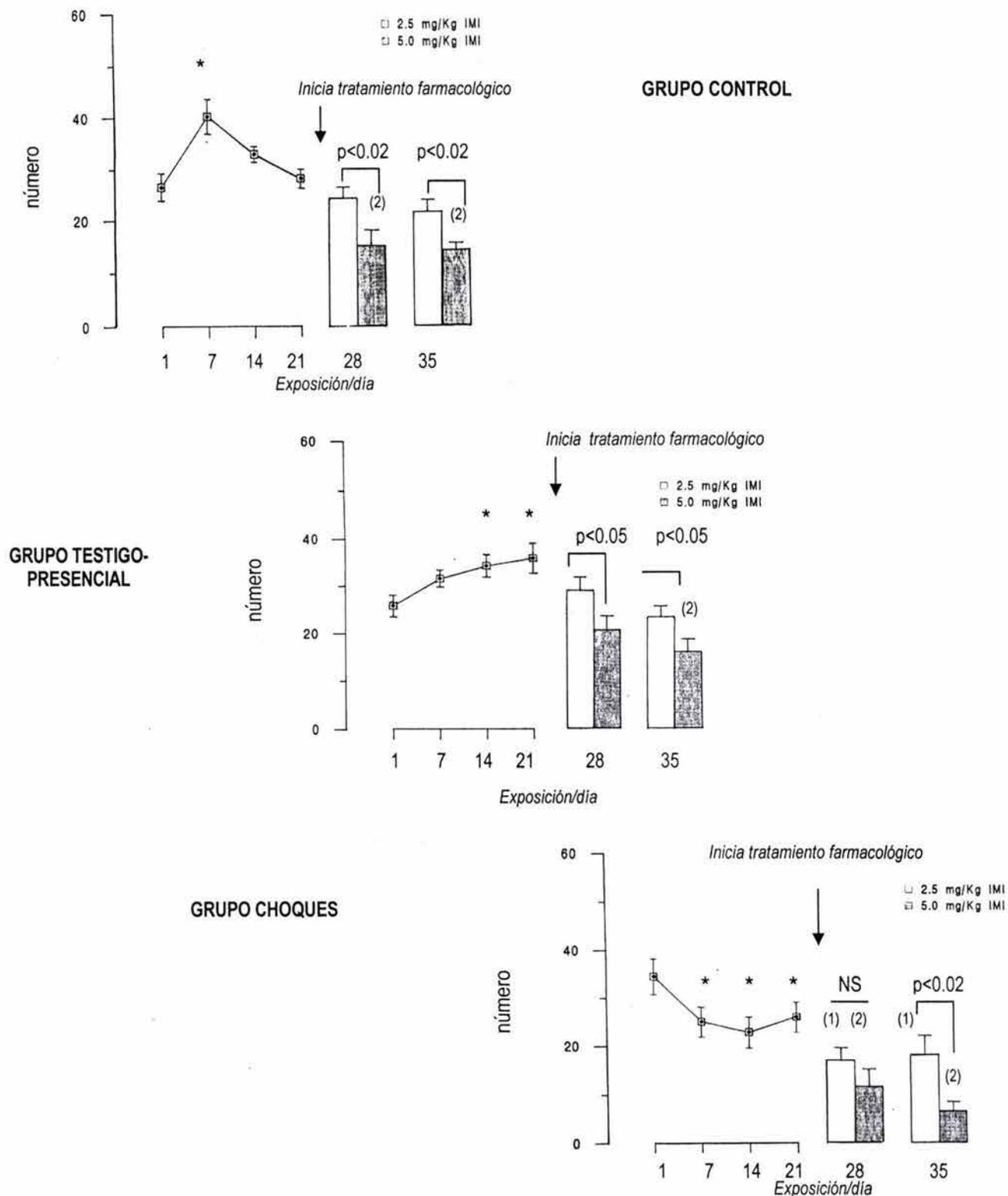


Fig. 12. Efecto de la manipulación experimental y el tratamiento con imipramina en la prueba de actividad locomotriz sobre el número de cuadros cruzados por las ratas (abscisa, día en que los animales fueron expuestos a la prueba conductual). La flecha indica el inicio del tratamiento farmacológico, el día 28 corresponde a 7 días de tratamiento farmacológico y el día 35 a 14 días de tratamiento farmacológico. Abrev. 2.5 mg/Kg IMI (grupo imipramina 2.5 mg/Kg, barras blancas); 5.0 mg/Kg IMI (grupo imipramina 5.0 mg/Kg, barras oscuras). * $p < 0.05$ vs día 1 (Dunnett test); (1) gpo. IMI 2.5 mg/Kg vs Día 1; (2) gpo. IMI 5.0 mg/Kg vs Día 1 (t-Student).

6.2.5.2. NADO FORZADO

6.2.5.2.1. NÚMERO DE INMOVILIDADES

6.2.5.2.1.1. Análisis global del número de inmovilidades

La manipulación conductual realizada a los grupos experimentales provocó un incremento significativo en el número de inmovilidades y el tratamiento con imipramina revirtió este efecto. El ANOVA de dos vías mostró diferencias altamente significativas entre las maniobras conductuales ($F:2,285= 10.92$; $p<0.0001$) y el tratamiento farmacológico ($F:2,285= 50.15$; $p<0.0001$), resultando significativa la interacción entre factores ($F:2, 285= 3.44$; $p<0.009$). Es decir, el número de inmovilidades desplegadas por los animales del grupo testigo-presencial ($p<0.05$) y grupo choques ($p<0.05$) fue mayor al compararlo con el grupo control. Las dosis de 2.5 y 5.0 mg/Kg de IMI redujeron significativamente ($p<0.05$) el número de inmovilidades en los grupos independientemente de la condición conductual a la que pertenecían. Los datos globales indicaron que el grupo testigo requiere de una dosis mayor de IMI (5.0 mg/Kg) para que el efecto de los 21 días de estrés psicosocial sobre el número de inmovilidades sea revertido (ver fig. 13c).

6.2.5.2.1.2. Análisis intergrupo del número de inmovilidades durante los primeros 21 días de prueba conductual

Se compararon los datos de cada una de las sesiones de prueba de los grupos que recibieron 2.5 mg/Kg de IMI contra los que recibieron 5 mg/Kg de IMI en el día 1, 7, 14 y 21 para cada una de las condiciones experimentales: control, testigo-presencial y choques antes de iniciar el tratamiento con IMI. Se utilizó la prueba t de Student. No se encontraron diferencias significativas en el número de inmovilidades desplegadas durante los 21 días de prueba entre los grupos de 2.5 mg/Kg y los grupos de 5.0 mg/Kg IMI (tabla 6) para cada uno de los grupos. Lo que nos indicó que ambos grupos que integraron cada una de las tres condiciones conductuales se comportaron de manera similar durante los 21 días de prueba, lo que nos permitió descartar diferencias intergrupo que pudieran haber influido en los resultados obtenidos una vez iniciado el tratamiento farmacológico. Por este motivo, se decidió fusionar los grupos para cada una de las condiciones durante los 21 días de prueba conductual y realizar así, las comparaciones correspondientes con respecto a los días en que los animales recibieron IMI.

Tabla 6. Nado forzado. Número de inmovilidades. No se observaron diferencias significativas intergrupo para cada una de las condiciones experimentales durante los 21 días de prueba. n, número de ratas; IMI, imipramina; los datos se representan como la media \pm el error estándar.

		Condición experimental					
		Actividad locomotriz: número de inmovilidades					
		Control		Testigo-presencial		Choques	
Registro conductual \ Dosis	2.5 mg/Kg n=9	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/Kg n=8	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/Kg n=8	5.0 mg/Kg n=8	
Día 1	32.9 \pm 2.9	29.3 \pm 2.7	25.1 \pm 3.4	28.4 \pm 3.7	36.9 \pm 3.1	44.1 \pm 4.2	
Día 7	35.6 \pm 2.6	28.4 \pm 3.5	42.1 \pm 2.3	39.3 \pm 2.5	39.8 \pm 3.1	47.4 \pm 5.8	
Día 14	30.6 \pm 2.6	28.8 \pm 3.5	41.4 \pm 1.9	36.8 \pm 3.3	41.4 \pm 2.4	52.0 \pm 7.7	
Día 21	34.0 \pm 3.9	35.2 \pm 2.0	39.5 \pm 3.4	43.0 \pm 5.6	33.8 \pm 3.5	49.1 \pm 7.7	

6.2.5.2.1.3. Análisis intragrupo del número de inmovilidades durante los 21 días de prueba

El análisis de una vía para muestras repetidas no ilustró diferencias significativas intragrupo en el grupo control durante los 21 días de prueba ($F:16,48= 1.59, p<0.204, NS$), lo cual nos indicó que la repetición de la prueba de nado forzado en un animal que sólo fue expuesto a la caja de dos compartimentos sin que existiera un compañero en el compartimento contiguo no tiene efecto sobre el número de inmovilidades durante las sesiones de registro. Con respecto al grupo testigo, el ANOVA indicó diferencias significativas a lo largo de las sesiones de registro ($F:15, 45= 11.4, p<0.0001$). El análisis *post-hoc* de Dunnett mostró diferencias significativas en el número de inmovilidades a los 7 ($p<0.05$), 14 ($p<0.05$) y 21 días de prueba ($p<0.05$) con respecto al primer día de prueba. Lo cual sugiere un incremento significativo en el número de inmovilidades conforme transcurren las sesiones en las que el animal fue expuesto a los olores de un animal estresado por choques eléctricos en las patas. Por otro lado, en el análisis intragrupo para el grupo choques no se observaron diferencias significativas en el número de inmovilidades a lo largo de las sesiones de registro ($F: 15, 45 = 1.63, p<0.196, NS$). Por lo que el estrés físico (choques eléctricos en las patas) al que fueron sometidos estos animales no modificó el número de inmovilidades durante los 21 días de estrés (ver fig. 14).

NADO FORZADO
NÚMERO DE INMOVILIDADES
(Análisis global)

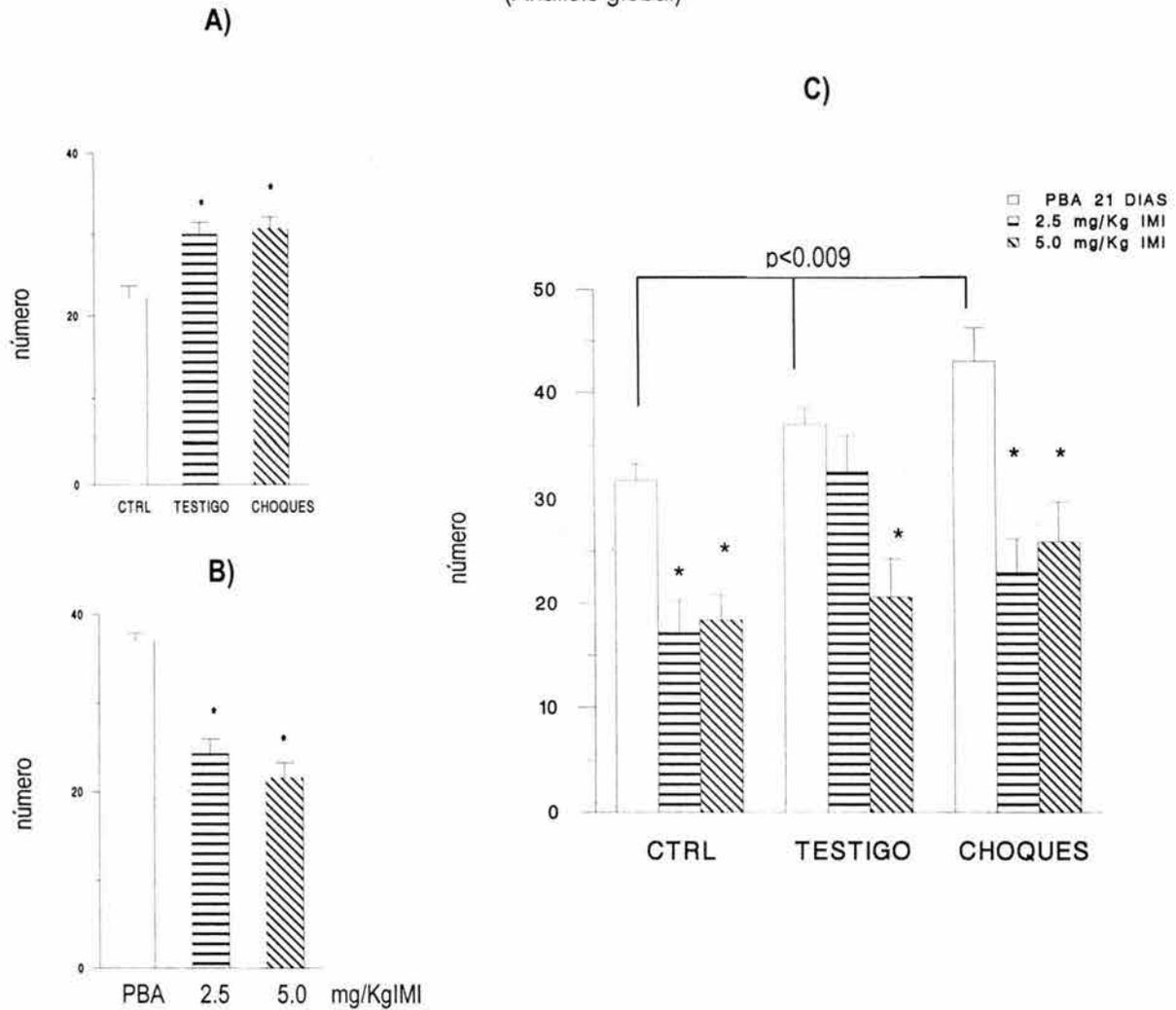


Fig. 13. Prueba de nado forzado: número de inmovilidades. Cada barra representa la media \pm el error estándar. A) El grupo testigo y choques desplegaron el mayor número de inmovilidades al compararse con el grupo control ($p<0.05$). B) La IMI en dosis de 2.5 mg/Kg y 5.0 mg/Kg redujo el número de inmovilidades de manera significativa al compararse con los 21 días de prueba conductual (PBA, $p<0.05$). c) La IMI en dosis de 2.5 y 5.0 mg/Kg redujo significativamente el número de inmovilidades en el grupo control y choques ($p<0.05$); sin embargo, el grupo testigo requirió de una dosis mayor (5.0 mg/Kg) de IMI para observar la reducción del número de inmovilidades ($p<0.05$). * $p<0.05$ método de Dunnett.

6.2.5.2.1.4. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico

Grupo control

Se realizaron comparaciones entre el primer día de prueba conductual y los días de tratamiento farmacológico. Se encontró que en el grupo control, la dosis de 2.5 mg/Kg redujo de manera significativa el número de inmovilidades a los 7 (día 28, $t= 3.41$, gl 24, $p<0.002$) y a los 14 días de tratamiento (día 35, $t= 4.39$, gl 24, $p<0.0002$) con respecto al primer día de prueba. Asimismo, la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI redujo de manera significativa el número de inmovilidades en los animales del grupo control a partir de los primeros 7 días de tratamiento (día 28, $t=3.67$, gl23, $p<0.001$) y se mantuvo hasta los 14 días después de haber iniciado la administración del fármaco (día 35, $t=3.72$, gl 23, $p<0.001$, fig. 14). Las comparaciones entre aquellos animales que recibieron una dosis de IMI de 2.5 mg/Kg contra los que recibieron 5.0 mg/Kg no fueron significativas ni a los 7 ($t=0.00$, 15 gl, $p<1.00$, NS) ni a los 14 días de tratamiento ($t=-0.53$, 15 gl, $p<0.603$, NS).

Grupo testigo

En el grupo testigo la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI no redujo el número de inmovilidades a los 7 ($t=-1.33$, gl 22, $p<0.197$, NS) y a los 14 días después del tratamiento ($t=-1.24$, 22 gl, $p<0.229$, NS). De manera similar, la dosis de 5.0 mg/Kg tampoco modificó el número de inmovilidades a los 7 días después de iniciado el tratamiento ($t=1.49$, 2gl, $p<0.150$, NS) ni a los siguientes 14 días de tratamiento ($t=1.24$, gl 22, $p<0.229$, NS). La comparación de la dosis de 2.5 mg/Kg contra la dosis de 5.0 mg/Kg a los 7 días de tratamiento, nos indicó que los animales que recibieron una dosis de 5.0 mg/Kg de IMI desplegaron menor número de inmovilidades con respecto a aquellos que recibieron 2.5 mg/kg ($t=2.26$, 14 gl, $p<0.04$). Sin embargo, esta misma comparación después de 14 días de tratamiento no proporcionó diferencias significativas en el número de inmovilidades atribuibles a la dosis de IMI ($t=1.89$, 14 gl, $p<0.07$, NS). En síntesis, la exposición diaria de la orina de animales estresados por choques eléctricos en las patas incrementó de manera significativa el número de inmovilidades a los 7 ($p<0.05$), 14 ($p<0.05$) y 21 ($p<0.05$) días de prueba al ser comparados con el primer día de prueba. La IMI a dosis de 2.5 mg/Kg y 5.0 mg/Kg restableció los valores del número de inmovilidades los días 28 y 35 (días 7 y 14 de tratamiento), no encontrándose así diferencias significativas con respecto al primer día de prueba.

Grupo Choques

La dosis de 2.5 mg/Kg redujo de manera significativa el número de inmovilidades en el grupo choques a los 7 ($t= 3.68$, gl 22, $p<0.001$) y 14 ($t= 4.04$, 22 gl, $p<0.0006$) días de haber empezado el tratamiento farmacológico al ser comparados contra el primer día de prueba. Sin embargo, no hubo diferencias entre la dosis de 2.5 mg/Kg y la de 5.0 mg/Kg con respecto al número de inmovilidades, por lo que no se encontraron efectos atribuibles a la dosis de IMI ($t=-1.07$, gl 14, $p<0.3000$, NS). De igual forma, la dosis de 5.0 mg/Kg redujo el número de inmovilidades a los 7 ($t=2.40$, gl 22, $p<0.02$) y 14 días de tratamiento ($t=3.68$, gl 22, $p<0.001$) al compararse contra el primer día de prueba. Sin embargo, no se observaron diferencias atribuibles a la dosis a los 14 días de tratamiento ($t=-1.07$, 14 gl 14, $p<0.300$, NS).

En síntesis, la exposición diaria de los olores provenientes de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas incrementó de manera significativa el número de inmovilidades. La IMI a cualquier dosis (2.5 o 5.0 mg/Kg) redujo el número de inmovilidades en el grupo control y en el grupo choques, mientras que en el grupo testigo-presencial sólo la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI restauró el número de inmovilidades a valores del primer día de prueba.

PRUEBA DE NADO FORZADO NÚMERO DE INMOVILIDADES (ANÁLISIS INTRA E INTERGRUPO)

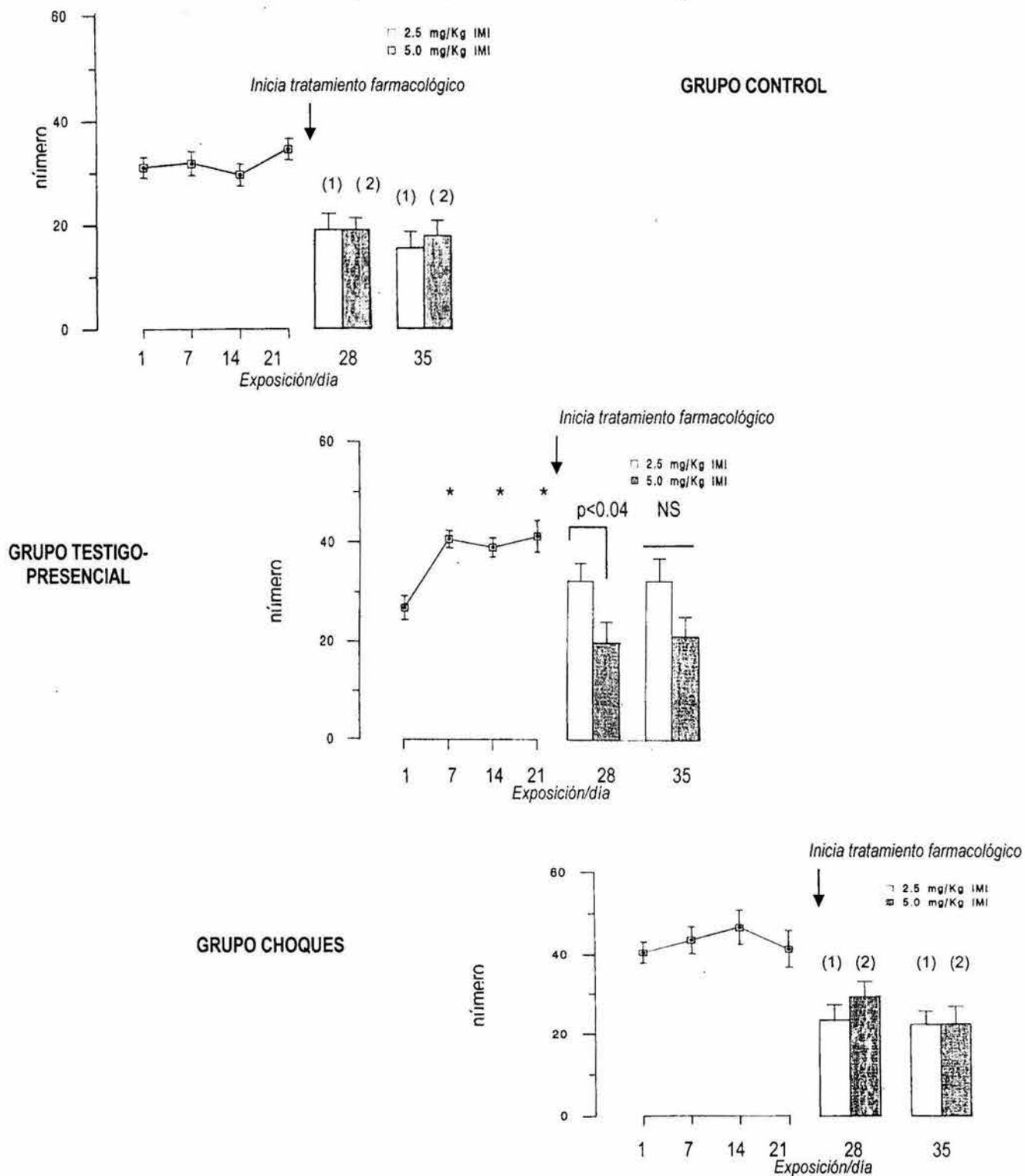


Fig. 14. Efecto de la manipulación experimental y el tratamiento con imipramina sobre el número de inmovilidades desplegado por las ratas (abscisa, día en que los animales fueron expuestos a la prueba conductual). La flecha indica el comienzo del tratamiento farmacológico, el día 28 corresponde a 7 días de tratamiento con IMI y el día 35 a 14 días de tratamiento farmacológico. Abrev. 2.5 mg/Kg IMI (grupo imipramina 2.5 mg/Kg, barras blancas); 5.0 mg/Kg IMI (grupo imipramina 5.0 mg/Kg, barras oscuras). *p<0.05 vs día 1 (Dunnnett test); (1) gpo. IMI 2.5 mg/Kg vs Día 1; (2) gpo. IMI 5.0 mg/Kg vs Día 1 (t-Student).

6.2.5.2. Latencia a la primera inmovilidad

6.2.5.2.1. Análisis global de la latencia a la primera inmovilidad

Las diferencias entre el factor manipulación experimental ($F: 2, 285 = 3.09; p < 0.04$) y el factor tratamiento farmacológico ($F: 2, 235 = 28.42; p < 0.0001$) fue significativo, encontrándose una interacción entre los dos factores ($F: 2, 235 = 2.95; p < 0.02$). La latencia a la primera inmovilidad se acortó de manera significativa en el grupo choques hasta un 36.2 % ($p < 0.05$) al compararlo con el grupo control y con el grupo testigo-presencial. Por otra parte, la latencia a la primera inmovilidad se prolongó significativamente ($p < 0.05$) sólo con la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI al compararse con la latencia desplegada por las ratas durante los días de prueba conductual donde no recibieron tratamiento farmacológico. Este incremento de la latencia sólo se observó en los grupos control y testigo-presencial ($p < 0.05$), pero no en el grupo choques, ver fig. 15.

6.2.5.2.2. Análisis intergrupo de la latencia a la primera inmovilidad durante los primeros 21 días de prueba conductual

Se compararon los datos de cada una de las sesiones de prueba de los grupos que recibieron 2.5 mg/Kg de IMI contra los que recibieron 5 mg/Kg de IMI en el día 1, 7, 14 y 21 para cada una de las condiciones experimentales y antes de iniciar el tratamiento con IMI: control, testigo-presencial y choques, utilizando la prueba t de Student. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de 2.5 mg/Kg y los grupos de 5.0 mg/Kg IMI en la latencia a la primera inmovilidad desplegada durante los 21 días de prueba conductual (ver tabla 7). Lo cual nos indicó que ambos grupos que integraron cada una de las tres condiciones conductuales se comportaron de manera semejante durante los 21 días de prueba, lo que nos permitió descartar diferencias intergrupo que pudieran haber influido en los resultados obtenidos una vez iniciado el tratamiento farmacológico. Por este motivo, se decidió fusionar los grupos para cada una de las condiciones durante los 21 días de prueba conductual y realizar así, las comparaciones correspondientes con respecto a los días en que los animales recibieron IMI.

Tabla 7. Nado forzado. Latencia a la primera inmovilidad. No se observaron diferencias significativas intergrupo para cada una de las condiciones experimentales durante los 21 días de prueba. n, número de ratas; IMI, imipramina; los datos se representan como la media \pm el error estándar.

		Condición experimental					
		Nado forzado: latencia a la primera inmovilidad					
		Control		Testigo-presencial		Choques	
Registro conductual	Dosis	2.5 mg/Kg n=9	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/Kg n=8	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/Kg n=8	5.0 mg/Kg n=8
	Día 1		19.7 \pm 6.6	27.6 \pm 9.6	21.5 \pm 7.6	16.0 \pm 10.1	11.6 \pm 6.7
Día 7		7.3 \pm 2.7	2.7 \pm 0.5	14.2 \pm 5.0	4.1 \pm 1.8	7.9 \pm 4.0	3.9 \pm 1.5
Día 14		7.3 \pm 2.3	11.7 \pm 3.2	14.4 \pm 5.3	5.7 \pm 2.0	19.5 \pm 7.7	12.2 \pm 6.1
Día 21		8.0 \pm 1.7	8.3 \pm 2.4	8.7 \pm 3.9	3.8 \pm 0.7	11.1 \pm 4.9	4.2 \pm 0.9

6.2.5.2.2.3. Análisis intragrupo de la latencia a la primera inmovilidad durante los 21 días de prueba

El ANOVA de una vía para muestras repetidas mostró diferencias significativas intragrupo en el grupo control ($F: 16, 48 = 6.78, p < 0.0006$). La latencia a la primera inmovilidad se acortó significativamente a los 7 ($p < 0.05$), a los 14 ($p < 0.05$) y a los 21 días de prueba conductual ($p < 0.05$) al compararse contra el primer día de prueba. Por otro lado, el análisis no indicó diferencias significativas intragrupo en el grupo testigo-presencial ($F: 15, 45 = 2.42, p < 0.07, NS$) ni en el grupo choques ($F: 15, 45 = 2.27, p < 0.09, NS$) en la latencia a la primera inmovilidad durante las sesiones de prueba conductual.

6.2.5.2.2.4. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico

Grupo control

Al analizar la latencia a la primera inmovilidad para cada uno de los grupos, se observaron diferencias significativas. El tratamiento farmacológico modificó de manera diferencial la latencia a la primera inmovilidad. Se encontró una diferencia significativa entre el grupo control de 2.5 mg/kg y el grupo

de 5.0 mg/kg en los primeros 7 días de tratamiento con IMI. La dosis de 5.0 mg/Kg de IMI alargó de manera significativa ($t=-2.27$, gl 15, $p<0.03$) la latencia a la primera inmovilidad después de 7 días de tratamiento; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la latencia a los 14 días de tratamiento con IMI entre el grupo control de 2.5 mg/Kg y el grupo de 5.0 mg/Kg ($t=-1.07$, gl 15, $p<0.30$, *NS*).

Grupo testigo

La dosis de 2.5 mg/Kg de IMI no modificó la latencia a la primera inmovilidad a los 7 ($t=0.85$, gl 22, $p<0.402$, *NS*) y a los 14 días de tratamiento ($t=0.509$, gl22, $p<0.616$, *NS*) al compararla contra el primer día de prueba; es decir, el primer esfuerzo que el animal realizó por resolver el problema permaneció sin cambio aún después de haber recibido el tratamiento farmacológico. Sin embargo, la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI alargó este primer esfuerzo a los 7 días después de iniciado el tratamiento ($t=-2.55$, 2 gl, $p<0.01$). Este alargamiento del primer esfuerzo permaneció a los 14 días de tratamiento, sin embargo ya no alcanzó la significancia estadística ($t=-1.27$, gl 22, $p<0.215$, *NS*). En cambio, se encontraron diferencias significativas entre el grupo 2.5 mg/kg y el grupo 5.0 mg/kg en la latencia desplegada por los animales del grupo testigo a los 7 días del tratamiento farmacológico. La dosis de 5.0 mg/kg alargó de manera significativa ($t=-2.55$, gl 14, $p<0.01$) la latencia a la primera inmovilidad al compararse con la dosis de 2.5 mg/kg en el grupo testigo a los 7 días de tratamiento. No se encontraron diferencias significativas en la latencia a la primera inmovilidad entre los grupos que recibieron 2.5 mg/Kg con los que recibieron 5.0 mg/Kg a los 14 días de tratamiento ($t=-1.26$, 14 gl, $p<0.229$, *NS*).

Grupo choques

Ni la dosis de 2.5 mg/Kg ni la de 5.0 mg/Kg de IMI modificaron la latencia a la primera inmovilidad en los animales del grupo choques durante los 7 y 14 días de tratamiento. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre el grupo choques que recibió 2.5 mg/kg de IMI y el grupo choques de 5.0 mg/kg durante los 7 y 14 días después de iniciado el tratamiento farmacológico, ver fig. 16.

NADO FORZADO
LATENCIA A LA PRIMERA INMOVILIDAD
(ANÁLISIS GLOBAL)

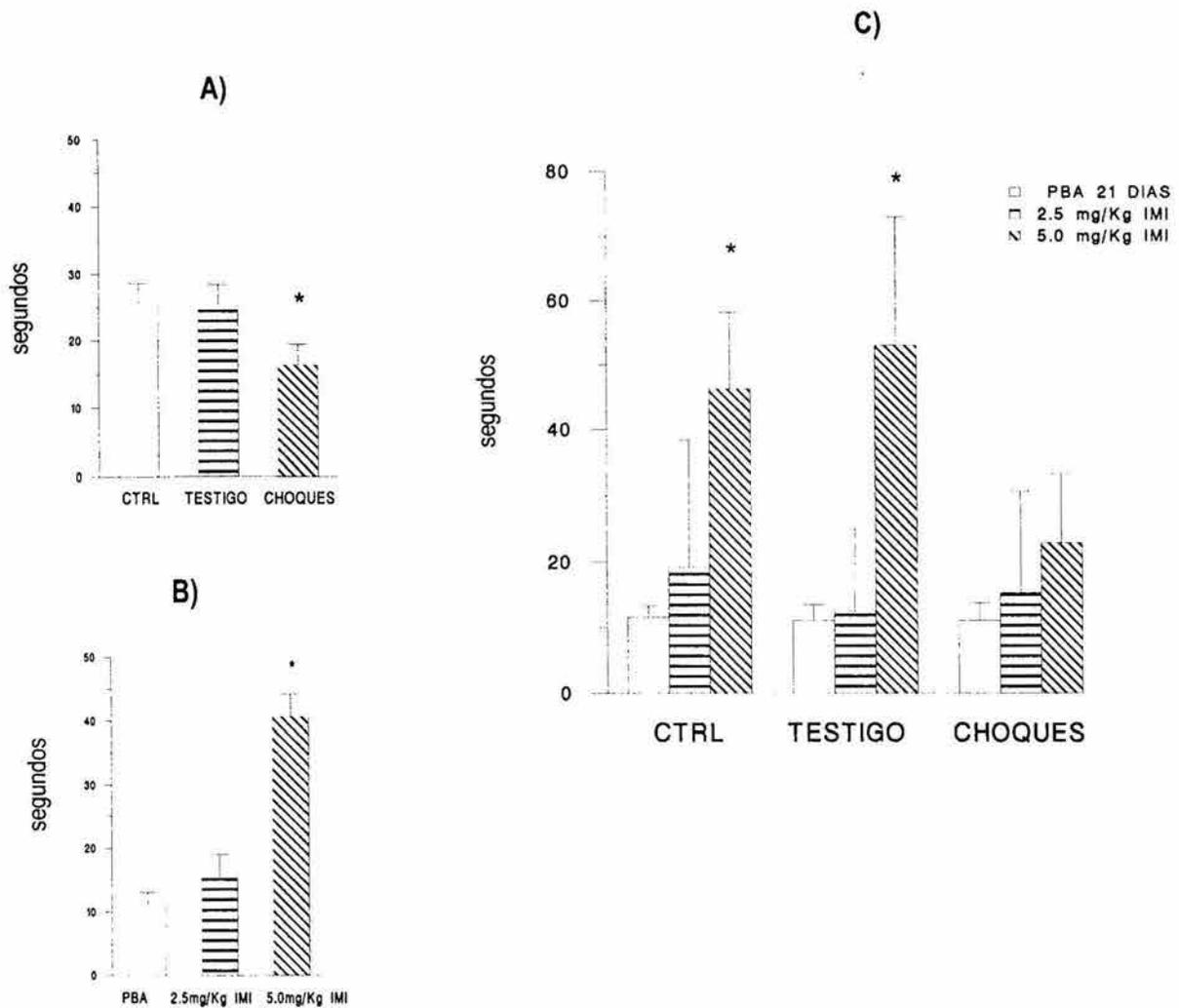


Fig. 15. Prueba de nado forzado: latencia a la primera inmovilidad. Cada barra representa la media \pm el error estándar. A) La latencia a la primera inmovilidad se acortó en el grupo choques al compararlo con el resto de los grupos ($p < 0.05$). B) La IMI en dosis de 5.0 mg/Kg alargó la aparición de la primera inmovilidad de manera significativa al compararlo con los 21 días de prueba conductual (PBA, $p < 0.05$) y con la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI ($p < 0.05$). c) La IMI en dosis de 5.0 mg/Kg alargó la latencia sólo en el grupo control ($p < 0.05$) y grupo testigo ($p < 0.05$); sin embargo, en el grupo choques ninguna de las dosis de imipramina modificó la latencia a la primera inmovilidad. * $p < 0.05$ Student-Newman-Keuls.

**PRUEBA DE NADO FORZADO
LATENCIA A LA PRIMERA INMOBILIDAD
(ANÁLISIS INTRA E INTERGRUPO)**

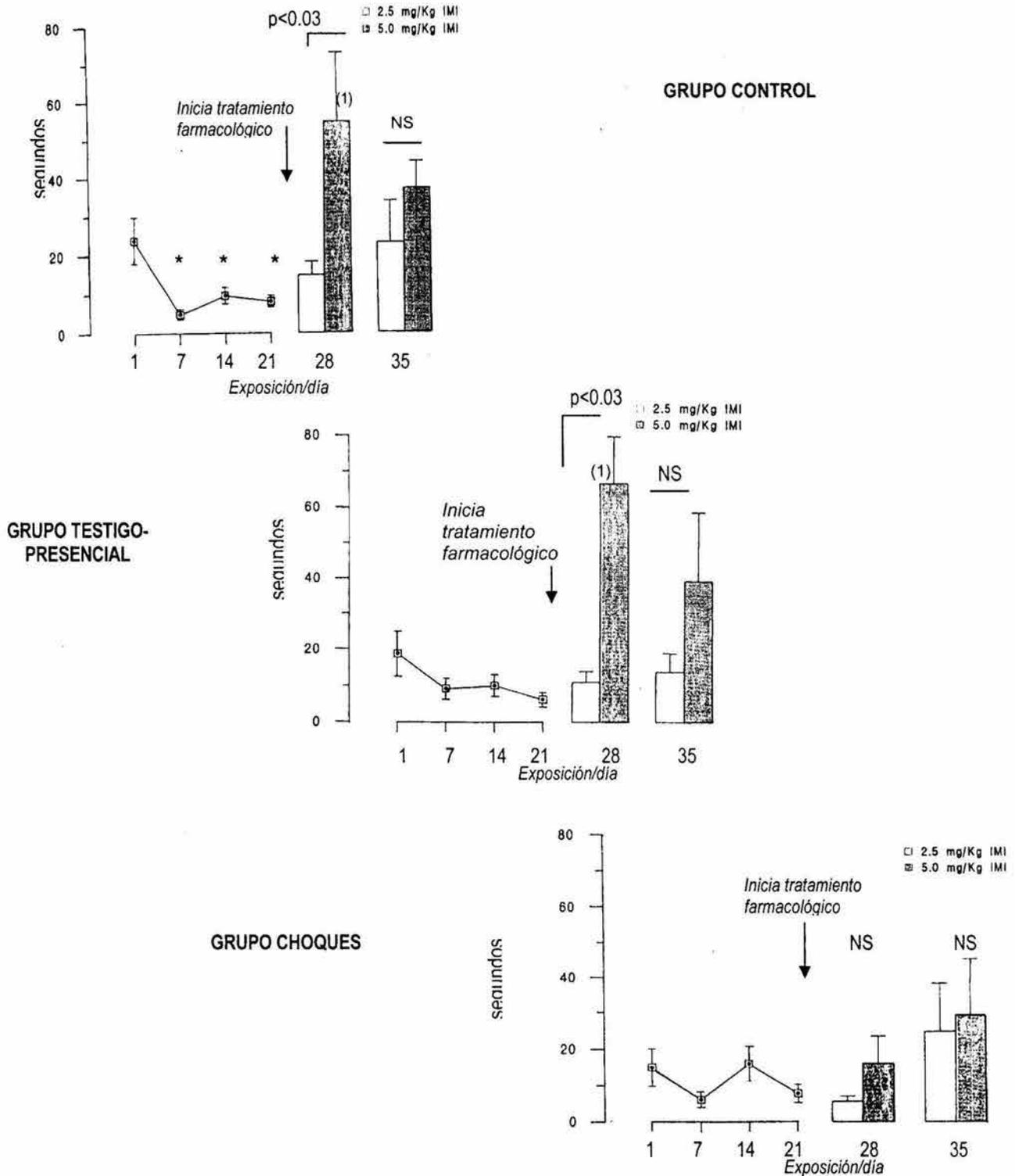


Fig. 16. Efecto de la manipulación experimental y el tratamiento con imipramina sobre la latencia a la primera inmovilidad (abscisa, día de exposición a las pruebas conductuales). La flecha indica el inicio del tratamiento farmacológico, el día 28 corresponde a 7 días de tratamiento y el día 35 a 14 días de tratamiento con IMI. Abrev. 2.5 mg/Kg IMI (grupo imipramina 2.5 mg/Kg, barras blancas); 5.0 mg/Kg IMI (grupo imipramina 5.0 mg/Kg, barras oscuras). * $p < 0.05$ vs día 1 (Dunnett test); (1) gpo. IMI 2.5 mg/Kg vs Día 1; (2) gpo. IMI 5.0 mg/Kg vs Día 1 (t-Student).

6.2.5.2.3. Tiempo total de inmovilidad

6.2.5.2.3.1. Análisis global del tiempo total de inmovilidad

El ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas ($F: 2, 285 = 17.6; p < 0.0001$) entre los grupos experimentales y entre los tratamientos farmacológicos ($F: 2, 285 = 13.5; p < 0.0001$), sin que la interacción resultase significativa ($F: 2, 285 = 0.96; p < 0.4, NS$). El tiempo total de inmovilidad fue mayor tanto en el grupo testigo-presencial ($p < 0.05$) como en el grupo que recibió choques eléctricos en las patas ($p < 0.05$) al compararlo con el grupo control. No se encontraron diferencias en el tiempo total de inmovilidad entre el grupo choques y el grupo testigo-presencial. Por otro lado, la IMI redujo el tiempo total de inmovilidad ($F: 2, 285 = 13.5; p < 0.0001$); la dosis de 2.5 mg/Kg redujo el tiempo total de inmovilidad en los grupos un 17.95 % ($p < 0.05$); mientras que la dosis de 5.0 mg/Kg, redujo hasta un 46.14% el tiempo total de inmovilidad en los tres grupos con respecto a los 21 días de prueba donde los animales no recibieron ningún tratamiento farmacológico, independientemente de cualquier maniobra experimental (ver fig. 17).

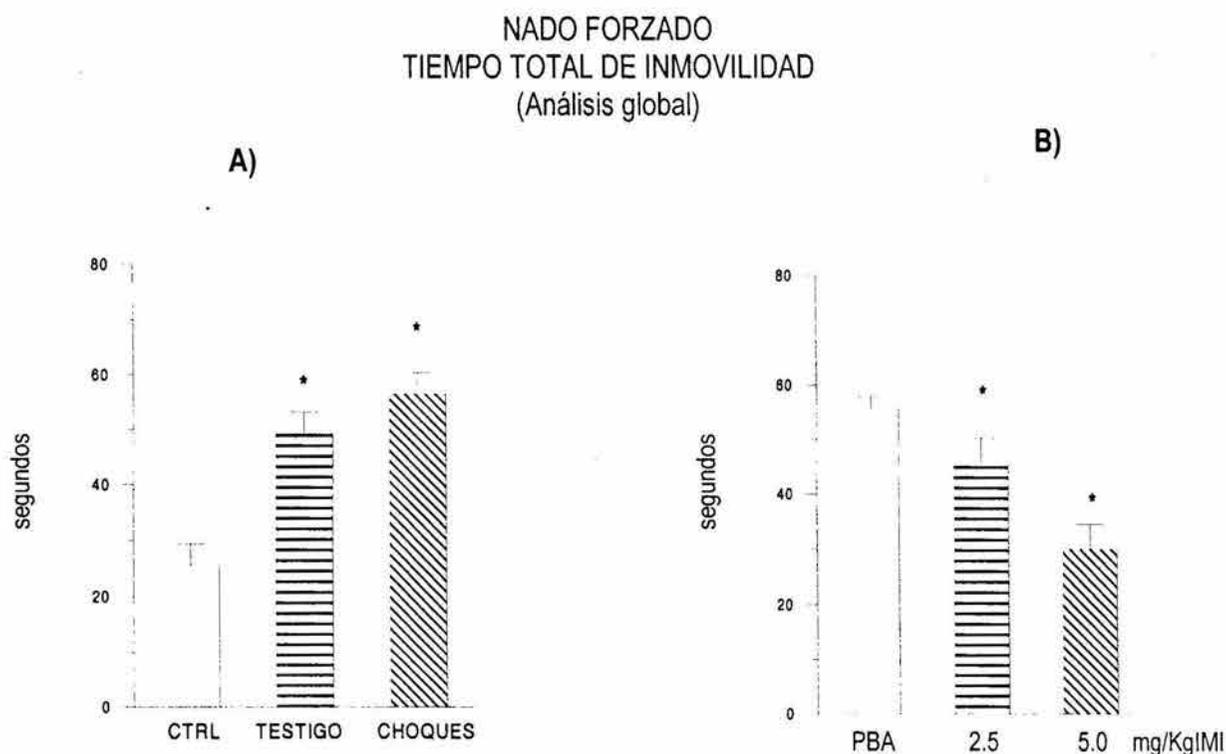


Fig. 17. Prueba de nado forzado: Tiempo total de inmovilidad. Cada barra representa la media \pm el error estándar. A) El tiempo total de inmovilidad fue mayor en los grupos testigo y choques ($p < 0.05$) al compararlo con el grupo control independientemente de cualquier tratamiento farmacológico. B) La IMI disminuyó el tiempo total de inmovilidad ($p < 0.05$) independientemente de cualquier maniobra conductual. No se observaron diferencias entre los grupos asociadas al tratamiento farmacológico. * $p < 0.05$ Student-Newman-Keuls.

6.2.5.2.3.2. Análisis intergrupo del tiempo total de inmovilidad durante los primeros 21 días de prueba conductual

Se compararon los datos de cada una de las sesiones de prueba de los grupos que recibieron 2.5 mg/Kg de IMI contra los que recibieron 5 mg/Kg de IMI en el día 1, 7, 14 y 21 para cada una de las condiciones experimentales y antes de iniciar el tratamiento con IMI: control, testigo-presencial y choques, utilizando la prueba t de Student. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de 2.5 mg/Kg y los grupos de 5.0 mg/Kg IMI en el tiempo total de inmovilidad durante los 21 días de prueba (ver tabla 8). Lo cual nos indicó que ambos grupos que integraron cada una de las tres condiciones conductuales se comportaron de manera similar durante los 21 días de prueba, lo que nos permitió descartar diferencias intergrupo que pudieran haber influido en los resultados obtenidos una vez iniciado el tratamiento farmacológico. Por este motivo, se decidió fusionar los grupos para cada una de las condiciones durante los 21 días de prueba conductual y realizar así, las comparaciones correspondientes con respecto a los días en que los animales recibieron IMI.

Tabla 8. Nado forzado. Tiempo total de inmovilidad. No se observaron diferencias significativas intergrupo para cada una de las condiciones experimentales durante los 21 días de prueba. n, número de ratas; IMI, imipramina; los datos se representan como la media \pm el error estándar.

		Condición experimental					
		Nado forzado: Tiempo total de inmovilidad					
		Control		Testigo-presencial		Choques	
Registro conductual \ Dosis	2.5 mg/Kg n=9	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/Kg n=8	5.0 mg/Kg n=8	2.5 mg/Kg n=8	5.0 mg/Kg n=8	
Día 1	40.3 \pm 5.3	38.5 \pm 7.3	33.0 \pm 7.7	36.9 \pm 6.9	56.97 \pm 8.9	56.0 \pm 7.9	
Día 7	43.2 \pm 6.0	39.9 \pm 7.1	69.9 \pm 6.5	61.1 \pm 7.0	77.0 \pm 14.9	61.1 \pm 7.9	
Día 14	35.2 \pm 6.1	32.5 \pm 3.5	70.7 \pm 14.1	56.7 \pm 10.5	70.0 \pm 8.0	67.1 \pm 13.4	
Día 21	41.3 \pm 7.3	37.4 \pm 3.5	76.6 \pm 10.6	74.3 \pm 15.5	88.5 \pm 28.2	73.7 \pm 18.0	

6.2.5.2.3.3. Análisis intragrupo del tiempo total de inmovilidad durante los 21

días de prueba

El ANOVA de una vía para muestras repetidas no mostró diferencias significativas en el grupo control durante los 21 días de prueba conductual ($F: 16, 48 = 1.16, p < 0.337, NS$). Lo cual nos indicó que la repetición del nado forzado no modificó el tiempo total de inmovilidad en los animales que integraron el grupo control. Al contrario, el análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas en el número de sesiones en el grupo testigo-presencial ($F: 15, 45 = 9.35, p < 0.00006$) con respecto al tiempo total de inmovilidad. La prueba *post-hoc* de Dunnett indicó diferencias significativas en el tiempo total de inmovilidad a los 7 ($p < 0.05$), a los 14 ($p < 0.05$) y a los 21 ($p < 0.05$) días de exposición a los olores de un animal estresado. Se observó un incremento gradual del tiempo total de inmovilidad, lo que nos sugirió que la exposición crónica de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas constituye un estímulo lo suficientemente relevante como para incrementar de manera significativa el tiempo total de inmovilidad en este grupo. Por otro lado, no hubo diferencias significativas en el tiempo total de inmovilidad en el grupo choques durante los 21 días ($F: 15, 45 = 2.32, p < 0.08, NS$) de estrés físico (choques eléctricos en las patas). Con los resultados antes obtenidos, se decidió realizar un análisis de correlación entre el tiempo total de inmovilidad y el número de sesiones de prueba. El análisis de regresión lineal de Pearson no mostró una correlación significativa en el grupo control ($r = -0.317, p < 0.683, NS$), mientras que en el grupo testigo-presencial existió una correlación positiva entre el tiempo de exposición crónica al olor y el tiempo total de inmovilidad ($r = 0.872, p < 0.05$) y para el grupo choques existió una correlación positiva entre el tiempo de estrés físico y el tiempo total de inmovilidad ($r = 0.936, p < 0.02$). En otras palabras, durante la prueba de nado forzado se observó un incremento gradual de la duración de la inmovilidad en el grupo testigo-presencial y choques conforme transcurrió el número de sesiones, pero no ocurrió así en el grupo control, por lo que ambas correlaciones podrían deberse a la manipulación experimental, en tanto, ser causadas por la inducción de alteraciones afectivas.

6.2.5.2.3.4. Análisis intergrupo e intragrupo con respecto a los días de tratamiento farmacológico

Grupo control

La dosis de 2.5 mg/Kg redujo de manera significativa el tiempo total de inmovilidad en los animales del grupo control a los 7 ($t = 3.03, 24 \text{ gl}, p < 0.005$) y a los 14 ($t = 2.68, 23 \text{ gl}, p < 0.01$) días de tratamiento.

Asimismo, la dosis de 5.0 mg/Kg redujo significativamente el tiempo total de inmovilidad a los 7 ($t=2.68$, 24 gl, $p<0.01$) y a los 14 días de tratamiento ($t=2.46$, 23 gl, $p<0.02$). Sin embargo, al comparar las dosis de 2.5 con la de 5.0 mg/Kg de IMI no se encontraron diferencias significativas a los 7 ($t=-0.187$, gl 15, $p<0.853$, NS) y a los 14 días de tratamiento ($t=-0.156$, gl 15, $p<0.878$) por lo que no existieron diferencias atribuibles a la dosis sobre el tiempo total de inmovilidad en el grupo control.

Grupo testigo

En el grupo testigo-presencial, la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI no tuvo ningún efecto sobre el tiempo total de inmovilidad a los 7 días de tratamiento ($t=-2.77$, gl 22, $p<0.01$), es decir, la inmovilidad permaneció incrementada con respecto al primer día de prueba. A los 14 días de tratamiento esta misma dosis de IMI ($t=-0.947$, gl 22, $p<0.353$) restauró los valores del tiempo total de inmovilidad a los del primer día de tratamiento. Asimismo, la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI restauró el tiempo total de inmovilidad a valores del primer día de prueba a los 7 días de tratamiento ($t=0.0246$, gl 22, $p<0.980$, NS) y esta misma dosis mantuvo este efecto hasta después de 14 días de tratamiento ($t=0.584$, gl 22, $p<0.565$, NS). No ocurrieron diferencias atribuibles a la dosis de IMI a los 7 ($t=2.00$, gl 14, $p<0.06$ NS) y a los 14 días de tratamiento ($t=1.14$, gl 14, $p<0.272$, NS).

Grupo choques

En el grupo choques la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI no modificó el tiempo total de inmovilidad a los 7 ($t=-0.818$, gl 22, $p<0.422$, NS) y a los 14 días de tratamiento ($t=0.193$, gl 22, $p<0.848$, NS). Asimismo, la dosis de 5.0 mg/Kg tampoco modificó el tiempo total de inmovilidad en el grupo choques ($t=1.33$, gl 22, $p<0.196$, NS) al compararse contra el tiempo total de inmovilidad desplegado en el primer día de prueba. Esta misma dosis provocó un decremento significativo en el tiempo total de inmovilidad a los 14 días de tratamiento ($t=2.11$, gl 22, $p<0.04$) al compararse contra el primer día de prueba. No se encontraron efectos diferenciales entre las dosis de 2.5 y 5.0 mg/Kg durante los primeros 7 días ($t = 1.14$, gl 14, $p<0.273$, NS) y 14 días ($t = 1.13$, gl 14, $p<0.278$, NS) de tratamiento farmacológico, es decir, las dos dosis redujeron por igual el tiempo total de inmovilidad (ver Fig. 18).

**PRUEBA DE NADO FORZADO
TIEMPO TOTAL DE INMOVILIDAD
(ANÁLISIS INTRA E INTERGRUPO)**

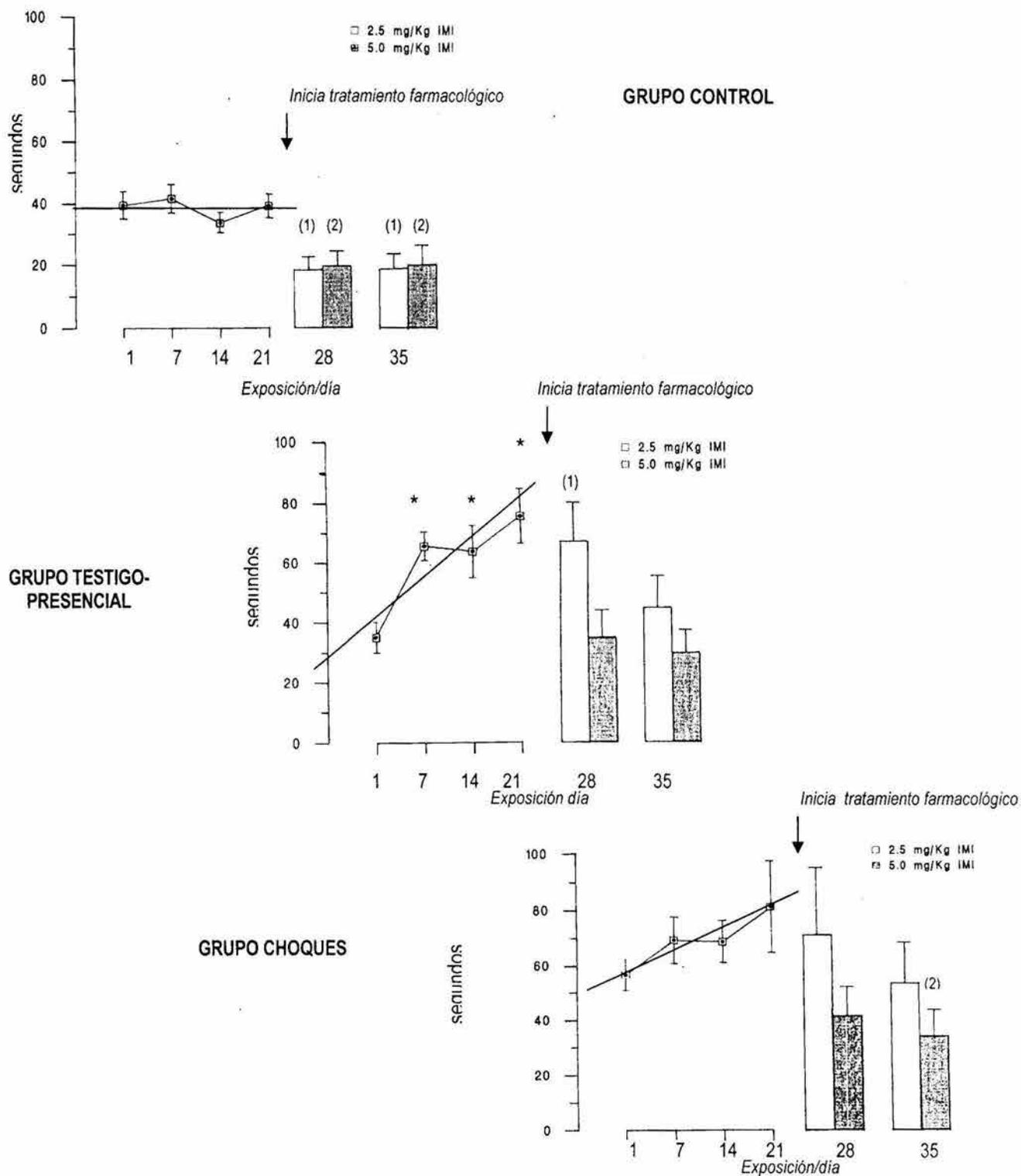


Fig. 18. Efecto de la manipulación experimental y el tratamiento con imipramina sobre el tiempo total de inmovilidad (abscisa, días de exposición a las pruebas conductuales). La flecha indica el inicio del tratamiento farmacológico con IMI, el día 28 corresponde a 7 días de tratamiento y el día 35 a 14 días de tratamiento farmacológico. Abrev. 2.5 mg/Kg IMI (grupo imipramina 2.5 mg/Kg, barras blancas); 5.0 mg/Kg IMI (grupo imipramina 5.0 mg/Kg, barras oscuras). * $p < 0.05$ vs día 1 (Dunnett test); (1) gpo. IMI 2.5 mg/Kg vs Día 1; (2) gpo. IMI 5.0 mg/Kg vs Día 1 (t-Student).

6.2.6. DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 2: Efecto de la exposición diaria (10 minutos, 35 días) de los olores provenientes de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas sobre la inmovilidad en la prueba de nado forzado.

El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de una exposición crónica a los olores provenientes de un animal sometido a choques inevitables e inescapables en las patas, en un segundo animal que en una sesión separada recibió tal estimulación, eliminando así el aspecto auditivo. Los hallazgos del presente experimento pueden resumirse en lo siguiente: a) La manipulación experimental realizada a los grupos modificó la actividad locomotriz. Los choques eléctricos en las patas redujeron la locomoción de los animales independientemente de cualquier tratamiento farmacológico. Por otro lado, el tratamiento con imipramina disminuyó de manera significativa la actividad locomotriz en los tres grupos experimentales. b) En la prueba de nado forzado la exposición del olor de un animal estresado incrementó el número y duración total de la inmovilidad de los animales del grupo testigo-presencial. De manera semejante, la aplicación de choques eléctricos en las patas incrementó significativamente tanto el número como el tiempo total de inmovilidad y, la imipramina revirtió este efecto. Sin embargo, el grupo testigo-presencial requirió de una dosis mayor de IMI (5.0 mg/Kg) para revertir los efectos provocados por la exposición diaria de la orina de un animal estresado. c) La latencia a la primera inmovilidad se acortó de manera significativa en el grupo choques y la imipramina en ninguna de las dos dosis empleadas (2.5 mg/Kg y 5.0 mg/Kg) revirtió este efecto en este grupo; mientras que la dosis de 5.0 mg/Kg alargó de manera significativa la latencia tanto en el grupo control como en el grupo testigo-presencial.

6.2.6.1. Prueba de actividad locomotriz en campo abierto

En este estudio encontramos de manera global que la actividad locomotriz disminuyó sólo en aquellos animales a los que se les aplicaron choques eléctricos en las patas. Estos hallazgos son consistentes con la de otros investigadores que han demostrado como las sesiones de choques eléctricos en las patas inducen déficit conductuales a largo plazo en pruebas de actividad locomotriz en campo abierto, los cuales persisten hasta por cuatro semanas (van Dijken et al., 1991). Van Dijken y colaboradores (1992) han demostrado que las ratas macho que son expuestas a una sesión de choques eléctricos en las patas (15 minutos) despliegan a largo plazo cambios conductuales en pruebas de locomoción en campo abierto. Así, las ratas que reciben choques eléctricos en las patas no difieren de animales control en la locomoción una hora después de la sesión de estrés, y solo se observa un

decremento significativo de este parámetro a partir de 4 horas post-estrés; mientras que se observa una clara reducción de la locomoción y de la conducta vertical aunado a un incremento significativo de la inmovilidad a partir del primer día de exposición a los choques, efecto que se prolonga hasta por 14 días. Este hallazgo sobre el decremento de la locomoción en animales sometidos a choques eléctricos en las patas después de 24 horas, es consistente con lo encontrado el experimento 1, en donde observamos que los animales del grupo choques no difieren de animales control cuando son evaluados en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto durante 5 minutos después de haber recibido durante 10 minutos choques eléctricos en las patas; asimismo es consistente con lo encontrado en nuestro experimento a largo plazo, en donde observamos que los animales del grupo choques despliegan un decremento significativo de la locomoción cuando son evaluados a los 7, 14 y 21 días después de recibir choques eléctricos en las patas.

Así mismo, también observamos que el tratamiento con el antidepresivo tricíclico imipramina, disminuyó la actividad locomotriz independientemente de cualquier manipulación experimental y sin embargo, esta disminución no interfirió con el efecto anti-inmovilidad inducido por este fármaco en la prueba de nado forzado, lo cual nos permitió descartar la posibilidad de que la actividad locomotriz del animal haya influido sobre la conducta desplegada por el animal cuando es forzado a nadar, como ya ha sido reportado en otros estudios donde no se encuentra correlación de la actividad locomotriz con la prueba de nado forzado (Alonso et al., 1991). Así, en estudios previos del grupo hemos demostrado que la administración de desmetilimipramina (2.1 mg/Kg i.p., durante 21 días) decremento el número de cuadros cruzados pero incrementa de manera significativa la latencia a la primera inmovilidad (Contreras et al., 1998), por lo que se considera que el efecto de un antidepresivo no se asocia con los cambios en la actividad locomotriz (Wieland y Lucki, 1990), aunque es posible observar que la locomoción sufra algún cambio. Por ejemplo, la fluoxetina reduce la actividad locomotriz cuando se aplica sistémicamente a ratas macho a una dosis de 1 mg/Kg, su efecto de aumentar el nado y disminuir la inmovilidad es evidente por lo que esa reducción en la locomoción no interfiere en la desesperanza conductual desplegada en la prueba de nado forzado (Contreras et al., 2001). En este sentido, Fernández-Guasti y colaboradores (1999) reportaron que la administración crónica de desmetilimipramina (DMI, 2.5 mg/Kg x 21 días) reduce de manera significativa el número de cuadros cruzados en la prueba de actividad locomotriz. Sin embargo, las acciones de la DMI en el comportamiento ambulatorio no afectaron la actividad exploratoria evaluada por el número total de cruces hacia los brazos abiertos o cerrados en la prueba de laberinto de brazos elevados

(plus-maze). Asimismo, el tratamiento crónico con DMI no tiene ningún efecto sobre la coordinación motora usando la prueba rota rod. Por tanto, estos investigadores sugieren que los efectos observados con DMI son específicos sobre algunos parámetros que denotan reactividad, ansiedad o desesperanza, pero no modifican componentes motores generales del comportamiento. Asimismo, Detke y colaboradores (1995) empleando diferentes fármacos antidepresivos a dosis de 5 a 20 mg/Kg encontrando que todos estos fármacos reducen de manera dosis dependiente la inmovilidad en la prueba nado forzado y ninguno de ellos incrementa la actividad locomotriz al contrario, todos la reducen sustancialmente. En nuestro experimento 2, observamos que la administración de IMI (2.5 y 5.0 mg/Kg i.p., durante 14 días) también disminuyó la actividad locomotriz pero a pesar de ello, se reduce la inmovilidad al incrementarse el tiempo de nado. Por otro lado, la imipramina en dosis de 10 y 20 mg/kg ejerce acciones sedantes sobre la actividad motora, pero sin generar cambios en la actividad exploratoria y sobre la reactividad de los animales a ambientes novedosos (Hughes y Pither, 1987). Por ello, consideramos en nuestro estudio que la inmovilidad en el nado forzado es equivalente al grado de desesperanza conductual desarrollada por las ratas al ser sometidas a esa situación aversiva y no a cambios en la locomoción.

Sin embargo, es conveniente mencionar algunos cambios observados en la actividad locomotriz en el análisis intragrupo. En el grupo control, el incremento de la actividad locomotriz solo se observó siete días después de iniciada la fase experimental y después retorna a valores del primer día, mientras que en el grupo testigo-presencial existe un incremento gradual de la actividad locomotriz y en ambos grupos la dosis de 2.5 mg/Kg de IMI restableció los niveles de actividad locomotriz a los del primer día; mientras que la dosis de 5.0 mg/Kg de IMI redujo la locomoción en ambos grupos. Sin embargo, no se observaron diferencias en este incremento de la locomoción en estos dos grupos al realizar la comparación global, por lo que se podría pensar que los efectos de la exposición crónica al olor de animales estresados no modificó la locomoción al compararse con animales control; sin embargo, el análisis intragrupo a lo largo del tiempo, sugiere que existen cambios diferenciales en la locomoción entre estos dos grupos de animales, por tanto, la manipulación experimental está propiciando cambios en la locomoción. Asimismo, llama la atención que durante el primer día de prueba no existieran cambios significativos entre estos dos grupos, por lo que no se replicó el hallazgo encontrado en el primer experimento. Sin embargo, las manipulaciones experimentales fueron diferentes. En el primer experimento no se aisló el aspecto auditivo de la comunicación intraespecífica generada en la caja de dos compartimentos; mientras que en este segundo experimento, los animales fueron expuestos solo al olor de animales estresados. Es posible sugerir que en

el primer experimento, las vocalizaciones emitidas por los animales del grupo choques también participaron en la generación de la ansiedad observada en el grupo testigo-presencial cuando éste fue sometido a una sola sesión de estrés psicosocial. Sin embargo, para el estudio a largo plazo el análisis intragrupo del grupo testigo-presencial sugiere un incremento gradual de la locomoción cuando el animal solo es expuesto a los olores de animales estresados sin que exista el componente auditivo. Luego entonces, es necesario realizar un análisis detallado de las diferentes conductas desplegadas por estos dos grupos sometidos a dos diferentes tipos de estresores durante el registro de la actividad locomotriz que pudiera contribuir a entender los cambios generados en la locomoción (**ver apéndice H**).

En general, la actividad locomotriz en campo abierto es usada comúnmente como una prueba simple de emocionalidad (Archer, 1973) y puede ser modificada por varios factores tales como el estrés (Kelley, 1993). Así, observamos que los animales que recibieron choques eléctricos en las patas desplegaron menor deambulaci3n a lo largo de las sesiones de prueba, lo cual es consistente con las observaciones de otros investigadores (Pláznick et al., 1988; van Dijken et al., 1991; 1992). Es decir, los animales estresados por choques eléctricos en las patas despliegan una marcada disminuci3n de la locomoci3n a partir del primer d3as de estrés, y ésta disminuci3n persiste por lo menos tres semanas (van Dijken et al., 1992). Así mismo, Katz (1980) desarrolló un modelo en el que las ratas fueron sometidas a una variedad de estresores de manera impredecible por 21 d3as y encontró un decremento de la actividad locomotriz durante 24 y 48 h después de la presentaci3n del último estresor. Nuestros resultados concuerdan con otros estudios en cuanto al decremento de la locomoci3n después de 24 h de una sesi3n de choques eléctricos en las patas (Pláznick et al., 1988). En consistencia, la IMI redujo el número de cuadros cruzados en mayor porcentaje en el grupo choques que en el resto de los grupos. Los fármacos selectivamente afectan la funci3n de diversos sistemas de neurotransmisi3n antes y después de la administraci3n de choques eléctricos en las patas, y sus efectos puede ser diferenciales dependiendo de que se trate de una situaci3n de estrés agudo o cr3nico donde la consolidaci3n de los cambios se manifiestan en diversos déficits conductuales.

Al contrario de lo observado en el grupo choques, con respecto al grupo testigo-presencial, la actividad locomotriz tiende a incrementarse conforme transcurre el número de sesiones. MaCkay-Sim (1981) ha argumentado que las ratas expuestas a la orina o heces de animales sometidos a estresores físicos como los choques eléctricos en las patas, tienden a incrementar su actividad locomotriz. En adici3n,

cuando una rata es colocada en áreas saturadas con olores de conoespecíficos que han sido estresados, despliegan reacciones de huida o evitación e incremento de la locomoción en general y conductas de escalamiento (climbing) hacia las paredes de la caja de prueba sugerentes de una búsqueda de escape, así como conducta vertical (rearing), autoacicalamiento y husmeo (Zalaquett y Thiessen, 1991). En general, se asume que aquellos animales que son sometidos a olores de animales estresados, despliegan conductas activas de escape más que conductas de congelamiento (Zalaquett y Thiessen, 1991) que se manifiestan por medio de un incremento en la locomoción; mientras que la repetición de choques eléctricos en las patas provoca un miedo condicionado que facilita respuestas de congelamiento (Inoue et al., 1994) y déficits conductuales en pruebas de actividad locomotriz (van Dijken et al., 1992). Estos datos concuerdan con lo que observamos en el presente estudio, el cual nos indicó que los animales que huelen olores de conoespecíficos estresados incrementan su locomoción.

En conclusión, los animales sometidos a estrés físico y psicosocial despliegan reacciones opuestas, cuando son evaluados en una prueba en campo abierto durante 21 días. El estrés físico, consistente en choques eléctricos en las patas durante un periodo de 21 días, sin tratamiento farmacológico, resulta en una inactividad a largo plazo en una prueba en campo abierto. Opuestamente, el estrés psicosocial, consistente en la exposición a olores de un animal estresado y por tanto, ni ser expuesto directamente a los choques eléctricos en las patas muestran un incremento gradual de la actividad en campo abierto cuando son comparados con animales control. Los efectos de estos dos tratamientos son similares a los resultados encontrados por Pijlman y van Ree (2002) usando un modelo de estrés muy semejante.

6.2.6.2. Prueba de nado forzado y parámetros evaluados

En nuestro estudio, todos los animales fueron sometidos a la sesión de pre-prueba, con la finalidad de inducir desesperanza en los animales desde el primer día de sesión. Sin embargo, también utilizamos esta prueba para evaluar el impacto de la aplicación prolongada de una situación que consideramos podría resultar aversiva para los animales. En el experimento 1, encontramos que una sola sesión de estrés psicosocial provoca un decremento de la inmovilidad en la prueba de nado forzado y un incremento del tiempo total en la prueba de enterramiento defensivo, concluyendo así que los animales estresados psicosocialmente despliegan un estado ansioso probablemente mediado por un estímulo odorífero

emanado de las ratas estresadas físicamente por choques eléctricos en las patas dado que los testigos no reciben de manera directa un "castigo". Sin embargo, en ese primer experimento no aislamos la estimulación auditiva, la cual también es posible que participe de manera importante en la modulación de la ansiedad observada en los animales testigo-presenciales, lo cual amerita otro diseño experimental. Por tanto, en el presente estudio los animales testigo-presenciales fueron sometidos a la caja de comunicación de dos compartimentos, pero esta vez solo fueron expuestos a la estimulación odorífera emitida por los animales estresados. Observamos, que la inhalación crónica de la orina de un animal estresado constituye un estresor lo suficientemente fuerte para inducir un incremento gradual en el número y tiempo total de inmovilidad en los animales. El tratamiento con IMI redujo tanto el número como el tiempo total de inmovilidad en los tres grupos experimentales, incluyendo al grupo control, lo cual indica que también los animales de este grupo mostraron un grado de desesperanza, sin embargo y de acuerdo a lo observado fue de mayor intensidad en los animales del grupo testigo y grupo choques. Además es importante resaltar, que en el grupo control no se encontró una correlación entre el tiempo de registro y el tiempo total de inmovilidad, lo cual nos indica que la repetición de prueba no tiene efecto gradual sobre la desesperanza conductual en animales intactos; sin embargo, en el grupo testigo-presencial si es posible observar esta correlación entre el tiempo total de inmovilidad y el número de sesiones, es decir, a mayor tiempo de exposición a los olores provenientes de la orina de un animal estresado mayor es la intensidad de la desesperanza conductual desarrollada, dado que solo la dosis mayor de IMI (5.0 mg/Kg) logró restaurar este efecto. Asimismo, la inducción de desesperanza en el grupo choques es semejante a la desarrollada en el testigo-presencial, dado que también se observó una correlación positiva entre el número de sesiones de estrés físico y el tiempo total de inmovilidad. Igualmente, sólo la dosis alta de IMI (5.0 mg/Kg) logró revertir de manera significativa el tiempo total de inmovilidad. Sin embargo, cabe destacar que ambos grupos fueron sometidos a estresores diferentes, lo cual sugiere que un estresor psicosocial caracterizado por el solo hecho de ser expuesto a los olores provenientes de la orina de un conoespecifico estresado, también pudiera constituir un estresor lo suficientemente fuerte como para inducir desesperanza.

En esta prueba cuantificamos la latencia al primer periodo de inmovilidad, la cual fue definida como el tiempo transcurrido desde el inicio de la prueba hasta que se presentó por primera vez la inmovilidad. De acuerdo con nuestras observaciones obtenidas en el presente estudio, sólo en el grupo control y en el grupo testigo, la imipramina a una dosis de 5.0 mg/kg alargó de manera significativa la aparición de la primera inmovilidad. Este incremento de la latencia se puede interpretar como indicador de un efecto

antidepresivo. Tal interpretación se fundamenta en la duración del primer esfuerzo que los animales realizan antes de abatirse por la situación apremiante que representa el verse forzados a nadar. De esta forma, la latencia al primer periodo de inmovilidad refleja el tiempo que los animales se esfuerzan por resolver una situación apremiante, por lo que un animal, muy "motivado" se esforzará por más tiempo antes de permanecer inmóvil. Para otros autores (Detke et al., 1995, 1997), dicho esfuerzo se refleja en el incremento de dos conductas activas exhibidas por los animales forzados a nadar: la conducta de nado, cuando los animales se desplazan vigorosa o lentamente por todo el estanque, y la conducta de escalamiento, caracterizada por los intentos de trepar por las paredes del estanque. Para este tipo de conductas, los antidepresivos disminuyen la inmovilidad a expensas de un aumento del nado o del escalamiento (Detke et al., 1995), en tanto que con nuestro registro, los antidepresivos reducen el número y tiempo de inmovilidad y/o incrementan la latencia al primer periodo de inmovilidad, un efecto que fue producido por la IMI crónica en las ratas. Sin embargo, en el grupo choques ninguna de las dos dosis de IMI (2.5 o 5.0 mg/Kg) modificó la latencia, lo cual nos sugiere que los choques eléctricos en las patas impiden la prolongación del primer esfuerzo por escapar de la situación de apremio que produce la IMI. Esto sugiere que los estresores psicosociales o físicos (choques eléctricos en las patas) pudieran estar causando cambios conductuales y neuroquímicos diferenciales, como ha sido sugerido por Inoue y colaboradores (1994). Recientemente Pijlman y van Ree (2002) reportaron que los animales que son sometidos a choques eléctricos en las patas muestran un decremento de la locomoción y de la exploración aunado aun incremento de la inmovilidad; mientras que el estrés emocional refiriéndose a aquellos animales que son testigos-presenciales del estrés físico inducido a sus compañeros muestran un incremento significativo de la actividad locomotriz. Estos investigadores sugieren que el estrés físico inducido por choques eléctricos en las patas genera respuestas pasivas de afrontamiento al estrés mientras que los animales sometidos a estrés emocional despliegan estrategias conductuales activas e incremento de la ansiedad. Estos hallazgos y los encontrados en el presente estudio sugieren que ambos estresores son fundamentalmente diferentes y promueven la emisión de pautas conductuales diferentes dependiendo de la modalidad del estímulo estresante.

La escasez de estudios que relacionen la presencia de un estímulo odorífero "natural" con modelos experimentales de depresión hace difícil establecer su participación en la regulación de la inmovilidad en la prueba de nado forzado y los únicos argumentos referidos al respecto son los estudios de Abel y colaboradores (Abel y Bilitzke, 1990; Abel, 1991ab; Abel y Hannigan, 1992). Sin embargo, consideramos

que existen diferencias metodológicas en nuestro estudio y las de este grupo de investigadores por lo que no pueden ser comparables.

Durante los pasados 30 años, han aparecido un buen número de publicaciones que demuestran que la liberación de sustancias de alarma, por ratas sometidas a condiciones estresantes produce cambios conductuales significativos en ratas que son expuestas a dichas sustancias, pero en todos los casos se reportan hallazgos dirigidos siempre a conductas de evitación o escape (Müller-Velten et al., 1966 ref. en Rottman y Snowdon, 1972; Carr et al., 1970; Rottman y Snowdon, 1972; Hornbuckle y Beall, 1974; King et al., 1975; MaCkay-Sim, 1981; Abel, y Bilitzke, 1990; Zalaquett y Thiessen, 1991; Abel, 1991ab; Abel y Hannigan, 1992) y no se ha abordado su participación en otros aspectos motivacionales. Además la relación entre ansiedad y la depresión podría ser abordada en este paradigma, así como los sistemas de neurotransmisión implicados. Empleamos la prueba de nado forzado como una herramienta para evaluar la intensidad del estrés posiblemente inducido por un estímulo odorífero, tratando de imitar una situación social conflictiva. Es decir, por medio de esta prueba, evaluamos el estado motivacional de los animales para buscar una salida ante una situación de apremio y determinar que tan vulnerables se encontraban los animales del grupo testigo-presencial para desarrollar desesperanza conductual, considerando que estos animales fueron los únicos sometidos a un olor "natural" emanado de un animal estresado, el cual posiblemente represente un estresor social potencial.

Todos los individuos que conforman el reino animal interactúan en mayor o menor grado con su entorno, que incluye a otros individuos de la misma especie. De hecho, el comportamiento social entraña la influencia de los individuos en el comportamiento de los demás (Hinde, 1977). Así, las conductas sociales tienen una función comunicativa la cual es parte esencial de la organización social y además cada sociedad animal puede incluir una o varias formas de comunicación. Las clases de estímulos que son importantes en una comunicación dependen en gran medida del hábitat y modos de vida de la especie y de manera particular, en la rata la comunicación olfativa es crucial para la vida del grupo (ver revisión de Gutiérrez-García y Contreras, 2002). Lo interesante, es determinar, en qué medida estas comunicaciones intraespecíficas pueden generar a largo plazo alteraciones en individuos susceptibles dependiendo de la magnitud y curso temporal de los cambios inducidos. De acuerdo a Borsini y Meli (1988), el usar animales previamente estresados en modelos animales de depresión, provee más información para poder entender por ejemplo, la acción terapéutica de fármacos antidepresivos. Con respecto a estas observaciones, en

nuestro segundo experimento encontramos que tanto los animales sometidos a choques eléctricos en las patas (estrés físico) como los animales expuestos a la orina de ratas estresadas (estrés psicosocial) requirieron de una dosis mayor IMI (la doble a la empleada en el grupo control) para observar los efectos anti-inmovilidad del fármaco, lo cual nos sugiere que es mayor la intensidad con la que dichos animales desarrollaron desesperanza y que puede ser revertida por el tricíclico. Así mismo, el hecho de que la imipramina redujera el número y el tiempo total de inmovilidad en nuestros animales control, nos sugiere que la prueba de nado es un modelo sensible para detectar el potencial antidepresivo de los fármacos. Es conveniente recordar un procedimiento habitual en el ensayo farmacológico, que consiste en estudiar las acciones de los recursos con posible acción terapéutica en animales de laboratorio, sanos. Después de todo, el estudio de las acciones de fármacos, incluso en órganos aislados provenientes de animales de laboratorio tan sanos como sea posible, es una práctica corriente (Contreras et al., 1990). Así mismo, el modelo de nado forzado podría servir como una herramienta metodológica para determinar las bases neurofisiológicas de la depresión y por ende, ser considerado como un modelo para el estudio experimental de la depresión.

En conclusión, es posible sugerir que el incremento gradual de la inmovilidad en los animales que fueron sometidos a la exposición crónica de un estímulo odorífero natural refleje un estado de desesperanza y el cual fue revertido por la administración de fármacos con potencia antidepresiva. Este paradigma podría ser un nuevo modelo para aproximarnos al estudio experimental de la depresión basado en un estresor "natural" al que muchas especies de animales se tienen que enfrentar de manera cotidiana.

6.3. Experimento 3: Determinación de los efectos de sustancias urinarias volátiles, estresoras, sobre dos estructuras límbicas.

6.3.1. Antecedentes

Existen estudios que han demostrado que las supuestas sustancias de alarma presentes en la orina de animales estresados son capaces de desencadenar conductas de evitación o escape en ratas, ratones u otros roedores expuestos al olor (Gutiérrez-García y Contreras, 2002, **apéndice G**). Sin embargo, causa notable sorpresa los pocos estudios críticos disponibles sobre la caracterización química de las feromonas de alarma en los vertebrados, en tanto más cuando el comportamiento evasivo en muchas especies se conoce desde antaño al cual se le induce con relativa facilidad, aunque es posible un ensayo bioquímico específico. Hasta el momento, la identificación estructural de dichas sustancias de alarma, utilizando por ejemplo la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y de sus efectos sobre estructuras cerebrales relacionadas con estados afectivos ha sido escasamente abordada en mamíferos. La cromatografía de gases, representa un medio adecuado para la separación, caracterización y cuantificación de las complejas mezclas orgánicas encontradas en los extractos de tejidos. Esta técnica tiene un gran poder para la separación de mezclas complejas para la identificación estructural de esos compuestos (Darbio, 1973). Se acepta que durante situaciones de estrés, se liberan de la orina feromonas que influyen en la conducta de ratas y ratones (Carr et al., 1970; Rottman y Snowdon, 1972; MaCkay-Sim, 1981; Abel, 1991a); sin embargo, se desconoce, si las diversas sustancias que contiene la orina de mamíferos, sean capaces de desencadenar cambios conductuales asociados a modificaciones de la actividad neuronal de estructuras implicadas en el comportamiento afectivo y susceptibles a estímulos estresantes tales como los son el núcleo septal lateral y la amígdala basolateral.

El cerebro de la rata es macrosmático, lo que se manifiesta por el gran desarrollo de los bulbos olfatorios. El sistema olfatorio de la rata y de otras especies, es fundamental para las funciones reproductivas, la conducta materna, la regulación neuroendocrina, la conducta agresiva (Shiple et al., 1995) y al parecer también para la comunicación mediada por feromonas de alarma. De manera particular, el órgano vomeronasal está involucrado en aquellas conductas mediadas por feromonas en los roedores (Dulac, 1997). Este órgano proyecta de manera específica y directa al núcleo olfatorio accesorio y de ahí se dirige a estructuras del sistema límbico, tales como son la amígdala medial y el hipocampo (Kevetter y Winans, 1981; Shiple et al., 1995). El núcleo de la amígdala ha sido involucrado en la organización del comportamiento agonístico (Luiten et al., 1985), principalmente en el comportamiento defensivo (Dixon,

1998) y en el miedo (Davis, 1992). Asimismo, cuando se presentan estímulos aversivos a animales de experimentación, se incrementa la actividad neuronal de la amígdala (Pascoe y Kapp, 1985) y la producción de proteína c-fos (Campeau et al., 1991); mientras que el daño en esta estructura reduce o elimina una amplia variedad de respuestas emocionales y fisiológicas relacionadas con el miedo (Davis, 1992).

Por otra parte, el núcleo septal es una estructura que tiene eferencias importantes hacia el bulbo olfatorio y ha sido involucrado en estados hedónicos y motivacionales (Thomas et al., 1991), además de ser un sitio blanco de acción de diversos fármacos ansiolíticos y antidepresivos (Treit et al., 1993; Contreras et al., 1989, 1990, 2001) por lo que su participación en el comportamiento mediado por feromonas resulta de interés. Tanto la amígdala como el núcleo septal lateral se encuentran interconectados y ambos están implicados en el comportamiento social modulado por feromonas (Sheehan y Numan, 2000). Sin embargo, no se ha establecido alguna correlación entre la actividad neuronal de estas estructuras límbicas cuando existe un estímulo odorífero que pueda tener propiedades de "alarma" y que se asocie a su vez a una situación aversiva por ejemplo, choques eléctricos aplicados en las patas de manera inescapable. Para demostrar esta hipótesis, en el presente estudio, se decidió utilizar como estímulo odorífero condicionado a la 2-heptanona, por ser una sustancia cetónica volátil, la cual se encuentra de manera natural en la orina tanto de ratas (Novotny et al., 1984) como en la de los humanos (Albone, 1984) y aunque no existe ningún reporte que implique a la 2-heptanona como una sustancia alarmógena en ratas o en otros mamíferos, al menos en algunos insectos como las abejas y las hormigas, se han demostrado sus propiedades como sustancia de alarma (Regnier y Law, 1968). De esta manera, es posible que la asociación de un estímulo odorífero (2-heptanona) con un estímulo aversivo (choques eléctricos en las patas) durante una sola sesión sea suficiente para desencadenar cambios electrofisiológicos en la actividad neuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral cuando el animal es reexpuesto a dicho olor. Por lo tanto, la orina de un animal que recibió choques eléctricos en las patas también podría funcionar como un estímulo condicionante capaz de inducir cambios electrofisiológicos en estructuras límbicas relacionadas con la ansiedad y la depresión en otro animal que es testigo-presencial de dicho "castigo".

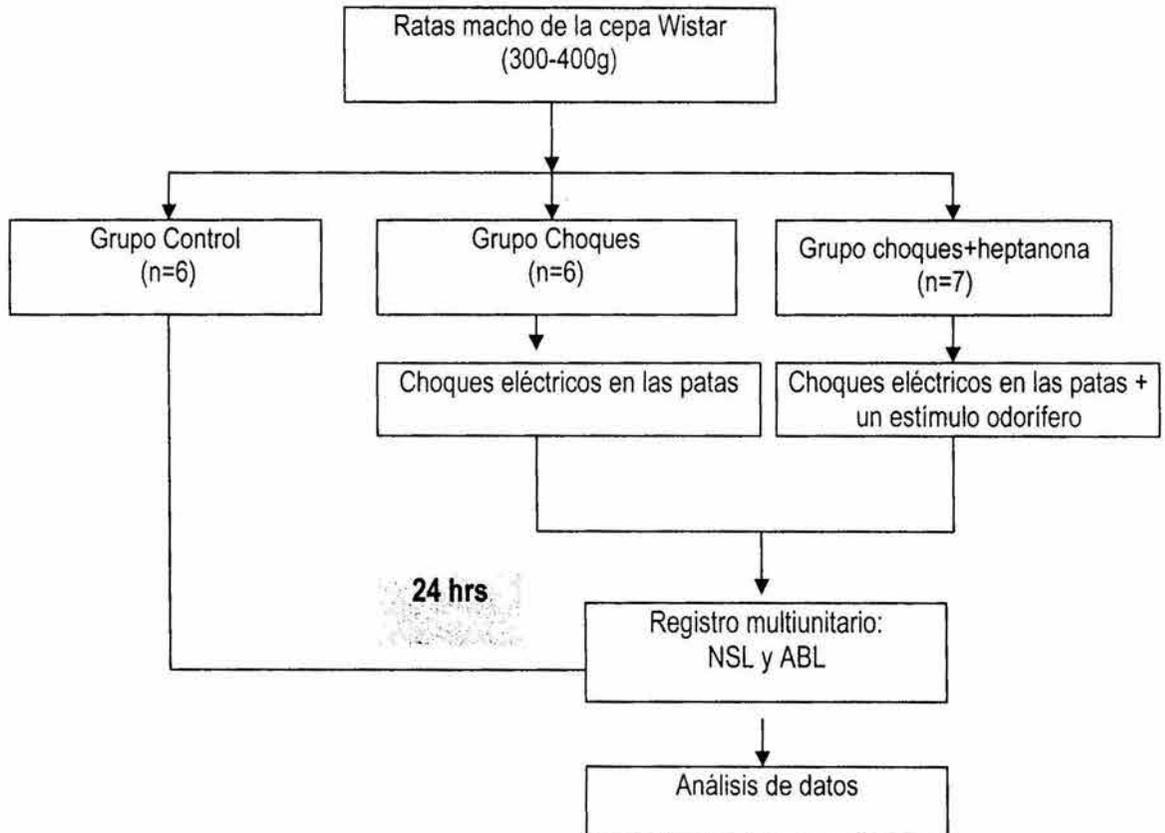
6.3.2. a) Efecto de la estimulación odorífera con un estímulo condicionado 2-Heptanona sobre la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral y del núcleo de la amígdala basolateral.

6.3.2.1. Grupos experimentales y procedimiento

Se integraron 3 grupos: un grupo llamado control, constituido por animales intactos (n=6), un grupo llamado choques (n=6) y un grupo llamado choques+heptanona (n=7). Tanto las ratas del grupo choques como las del grupo choques + heptanona, fueron colocadas individualmente en una caja de vidrio (15 x 12 cm de base y 30 cm de altura), con el piso electrificado. Se dejaron pasar 5 minutos de habituación antes de iniciar la sesión. Inmediatamente después las ratas del grupo choques recibieron durante 10 minutos, 40 choques isócronos por minuto, con una intensidad de 1 mA y una duración de 0.5 s con corriente directa. Un tercer grupo llamado choques+heptanona, pasó por las mismas condiciones del grupo choques excepto en que al momento de recibir los choques eléctricos en las patas se colocó en la base de la caja un algodón impregnado (0.4 ml) de una cetona volátil de 7 carbonos, la 2-heptanona la cual ha sido identificada como un estímulo odorífero relevante en insectos (Regnier y Law, 1968). Al finalizar la prueba (10 minutos), las ratas fueron retiradas de la caja y enviadas al bioterio de estancia. Veinticuatro horas después las ratas fueron sometidas a la preparación quirúrgica de encéfalo aislado para llevar a cabo el registro multiunitario de la actividad neuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral.

6.3.2.2. Diagrama de trabajo

a) Efecto de la estimulación odorífera con un estímulo condicionado 2-Heptanona sobre la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral (NSL) y del núcleo de la amígdala basolateral (ABL).



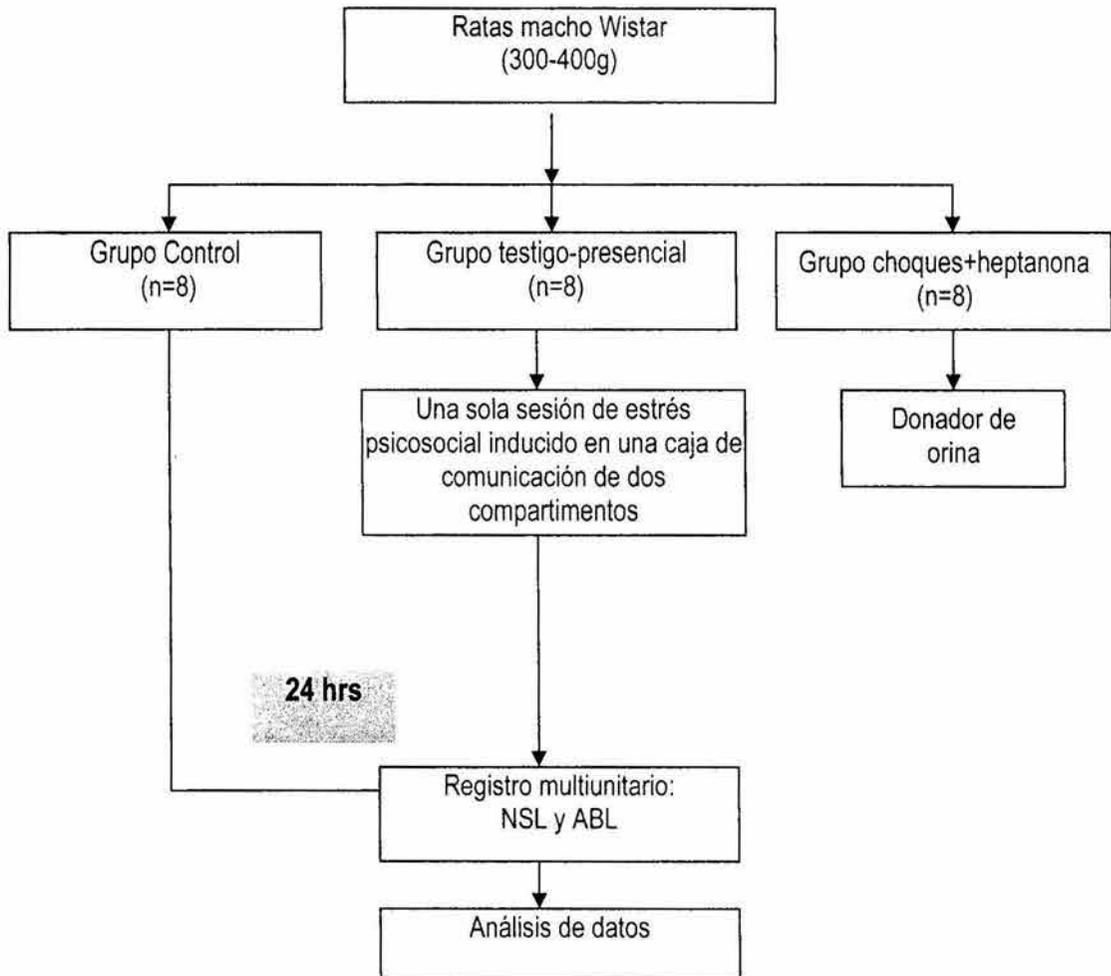
6.3.3. b) Cambios de la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral ante la estimulación odorífera que emana de la orina de una rata testigo-presencial y la de otra que recibe choques eléctricos en las patas en una sesión de estrés.

6.3.3.1. Grupos experimentales y tratamientos

Se integraron 2 grupos: un grupo llamado control, constituido por animales intactos (n=8) y un grupo llamado testigo-presencial (n=8). Las ratas del grupo control fueron colocadas durante 10 minutos en el compartimento seguro de la caja de comunicación descrita en el experimento 1. Estas ratas no recibieron ningún tipo de estimulación olfativa ni auditiva proveniente de un animal estresado por choques eléctricos en las patas. A las veinticuatro horas fueron sometidas a la preparación de encéfalo aislado para el registro multineuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral. Los animales que integraron el grupo testigo-presencial, también fueron colocados en el compartimento seguro de la caja de comunicación durante 10 minutos, pero estuvieron sujetos a la estimulación tanto olfativa como auditiva emitida por una rata que se encontraba en el compartimento contiguo recibiendo choques eléctricos en las patas (1 mA, corriente directa, 0.5 s). A las veinticuatro horas, fueron sometidas a la preparación de encéfalo aislado para obtener el registro multineuronal de las estructuras de interés. Los animales que recibieron choques eléctricos en las patas fueron considerados sólo como donadores de orina (0.4 ml) y se descartaron del resto del estudio. Para la obtención de la orina de los donadores, las ratas que recibieron choques eléctricos en las patas fueron colocadas veinticuatro horas después de una primera sesión de choques, nuevamente al compartimento electrificado pero sin recibir ninguna estimulación eléctrica. Todas las ratas orinaron al momento de ser colocadas en el compartimento y la orina fue colectada de la base de la caja por medio de una jeringa desechable (Plastipak® de 1 ml). El procedimiento para la estimulación odorífera fue descrito en la sección de métodos, sólo que para este experimento se añadió a la serie de sustancias inhaladas la orina de los animales estresados por choques eléctricos en las patas con quienes los testigos-presenciales compartieron el estrés.

6.3.3.2. Diagrama de trabajo

b) Cambios de la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral (NSL) y de la amígdala basolateral (ABL) ante la estimulación odorífera que emana de la orina de una rata testigo-presencial y la de otra que recibe choques en una sesión de estrés psicosocial.



6.3.4. c) Análisis cromatográfico acoplado a espectrometría de masas de muestras de orina de animales control, animales sometidos a choques eléctricos en las patas y de animales testigo-presenciales sometidos a estrés psicosocial.

6.3.4.1. Procedimiento

Se formaron aleatoriamente cuatro grupos independientes de ratas: un grupo control (n=8), un grupo testigo-presencial (n=8), un grupo choques (n=8) y un grupo testigo+diazepam (n=8). Todos estos grupos fueron sometidos a las condiciones experimentales descritas en el experimento 1, con respecto a la caja de comunicación de dos compartimentos, es decir, por pares cada una de las ratas que integraron el grupo choques fue colocada en el compartimento electrificado y de manera simultánea cada una de las ratas del grupo testigo fueron introducidas en el compartimento seguro durante 5 minutos. Veinticuatro horas después de este periodo de habituación (pre-prueba), las ratas fueron colocadas nuevamente al mismo compartimento durante 5 minutos, tras los cuales cada una de las ratas que integraron el grupo choques recibió durante 10 minutos, 40 choques por minuto (1mA, 0.5 s, corriente directa). La otra rata (grupo testigo-presencial), permaneció en el compartimento contiguo sin recibir choques, pero fue expuesta a la estimulación auditiva y olfativa proveniente de la rata del grupo choques. Las ratas que integraron el grupo control, recibieron la misma manipulación, excepto en que fueron colocadas en el compartimento seguro (sin estimulación sensorial alguna), es decir no existió compañero en el compartimento contiguo. El grupo testigo+diazepam fue sometido a las mismas condiciones que el grupo testigo-presencial, pero se le inyectó una hora antes de recibir estrés psicosocial una dosis de 1 mg/kg de diazepam (i.p.). Inmediatamente después de la situación de 10 minutos de estrés psicosocial o choques eléctricos, según el grupo correspondiente, las muestras de orina se colectaron de la caja de comunicación descrita en el experimento 1, en un horario comprendido de 9.00 a 11:00 a.m. por medio de una jeringa desechable (Plastipak® de 1 ml). La orina de todos los animales para cada uno de los grupos fue reunida en viales de vidrio especiales (10 ml) para la determinación de posibles sustancias volátiles por medio del método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GS/MS). El análisis de cromatografía de gases se realizó en un equipo Hewlett-Packard, Modelo G1800B GCD SYSTEM, con un detector de ionización electrónica, mediante columnas capilares (HP-S, con material de empaque al 5% de fenilmetilsiloxano) de 30.0 m X 0.25 mm X 0.25 µm y se utilizó como gas inerte Helio (0.8 ml/minutos). La concentración e inyección de volátiles se realizó en un equipo 7694E Head Space sampler. La temperatura

del vial fue de 100 °C con agitación durante 5 minutos y como tiempo de equilibración del vial 30.0 minutos. Posteriormente, se realizó el análisis de los cromatogramas y la identificación cualitativa de los compuestos de interés presentes en las muestras de orina por medio de espectrometría de masas (Hawlett-Packard 5982 dodecapole instrument) usando una cámara de ionización de 70 eV.

6.3.5. RESULTADOS

6.3.5.1. Experimento: a) Efecto de la estimulación odorífera con un estímulo condicionado 2-Heptanona sobre la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral y del núcleo de la amígdala basolateral.

En la fig. 19 y 20 se ilustran un esquema representativo del corte de cerebro de la rata, el área sombreada representa la zona en que fueron localizadas las puntas de los electrodos de registro dentro del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral. También se muestra la trayectoria seguida por el electrodo de estimulación hacia el bulbo olfatorio.

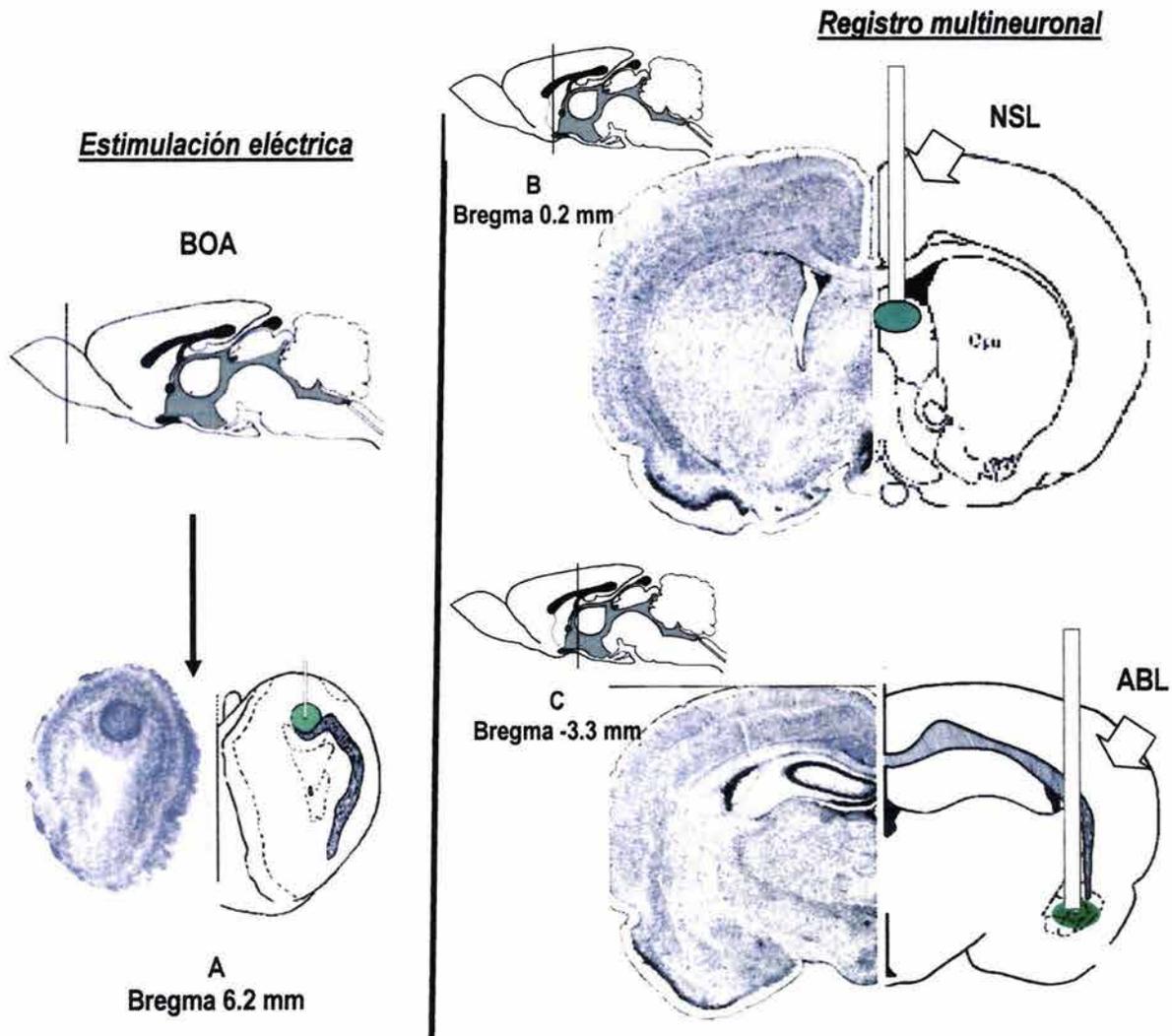


Fig. 19. Representación de un corte sagital y coronal del cerebro de rata. El área sombreada indica donde se localizaron los sitios dejados por los electrodos de registro. La trayectoria del electrodo de registro en el bulbo olfatorio accesorio (BOA) y los electrodos de registro de la actividad multilinear del núcleo septal lateral (NSL) y de la amígdala basolateral (ABL) se muestran con una barra blanca.

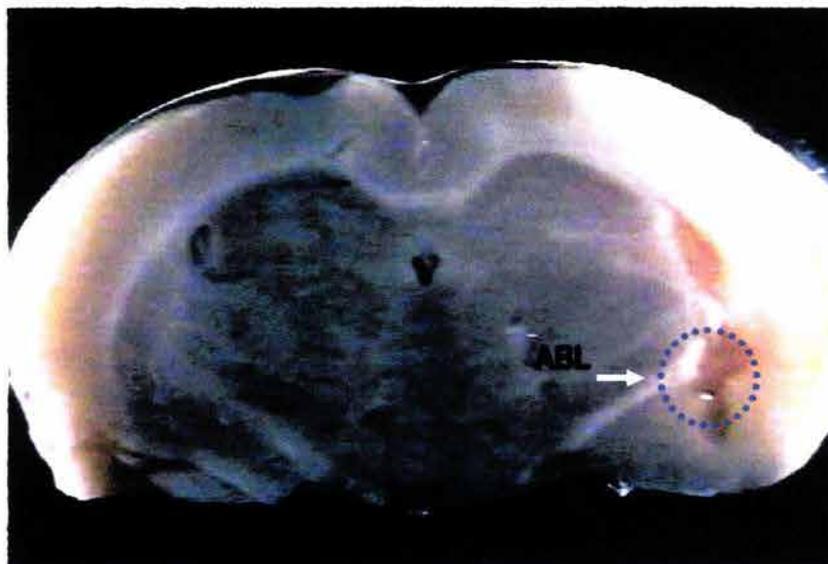
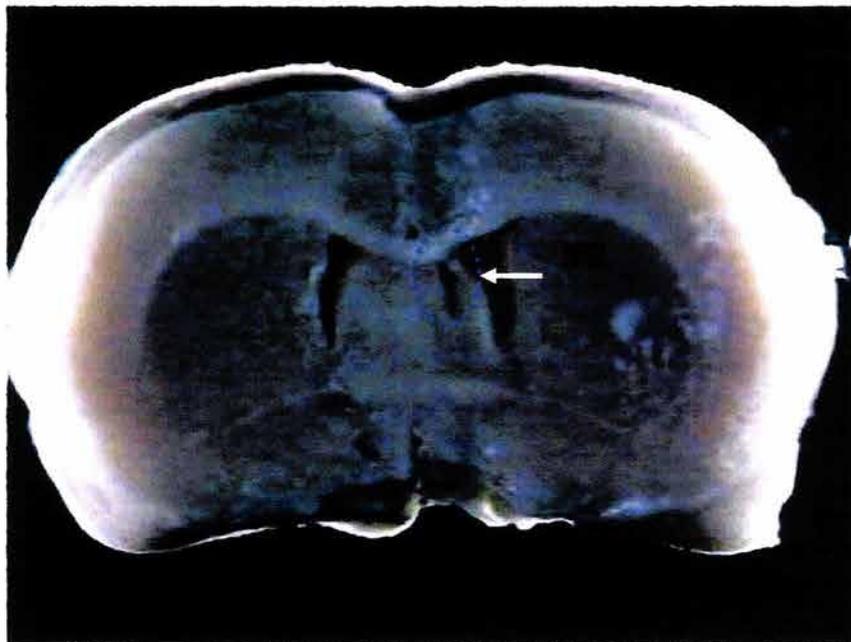


Fig. 20. Corte coronal del cerebro de una rata en donde se observa la trayectoria del electrodo de registro de la actividad multineuronal del núcleo septal lateral (NSL) y de la amígdala basolateral (ABL).

En la fig. 21 se muestra el porcentaje de cambio de la actividad multineuronal del núcleo septal lateral. El ANOVA de una vía para muestras repetidas no ilustró diferencias significativas intragrupo en el grupo control ($F: 7, 36= 1.619, p<0.162, NS$) y en el grupo choques ($F: 7, 33= 1.072, p<0.403, NS$). Sólo se observaron diferencias significativas intragrupo en el grupo choques+heptanona ante los diferentes estímulos odoríferos cuando éstos fueron comparados con el estímulo aire ($F: 7, 42= 2.48, p<0.03$). La estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio incrementó de manera significativa ($t=-2.30, gl 12, p<0.03$) la frecuencia multineuronal del núcleo septal lateral al compararlo con la estimulación con aire. Asimismo, el estímulo odorífero 2-heptanona ($t=-2.30, gl 12, p<0.04$, ver figura 16), acetona ($t=-2.84, gl 12, p<0.01$) y orina de la propia rata ($t=-2.34, gl 12, p<0.03$) provocaron un incremento significativo en la frecuencia multiunitaria del núcleo septal lateral, al compararla contra el estímulo aire. No se encontraron diferencias significativas con los estímulos 3-heptanona ($t=-0.335, gl 12, p<0.743, NS$), metanol ($t=-0.866, gl 12, p<0.403$) y benceno ($t=-1.25, gl 12, p<0.235$).

ESTIMULACIÓN ODORÍFERA ACTIVIDAD MULTINEURONAL DEL NÚCLEO SEPTAL LATERAL

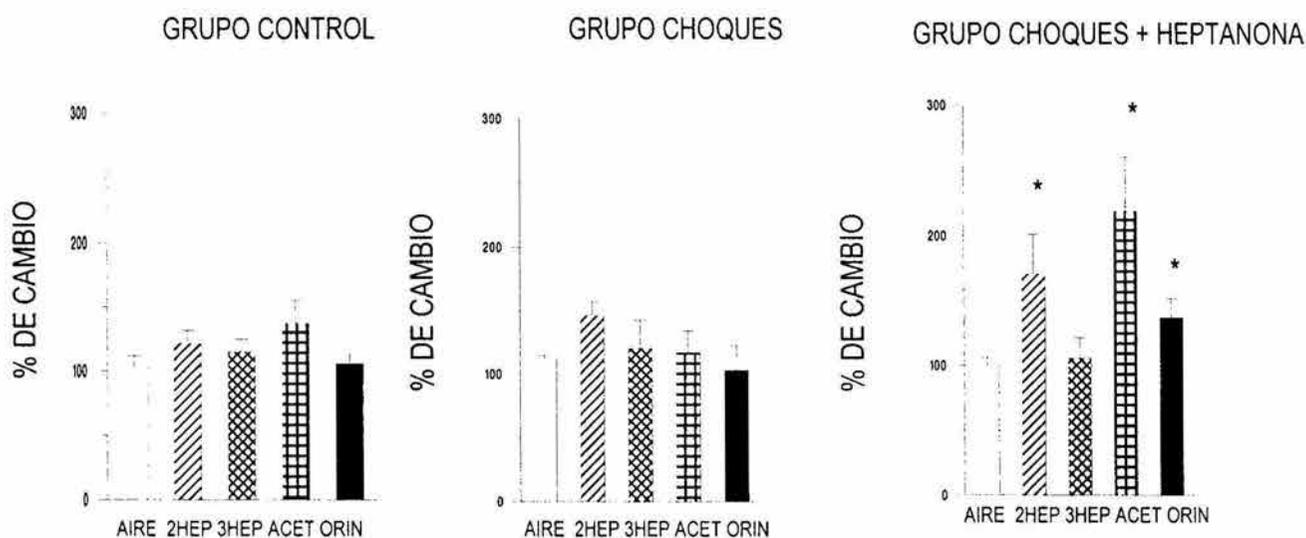


Fig. 21. Porcentaje de cambio de la actividad multineuronal del núcleo septal lateral durante la estimulación odorífera. La actividad multineuronal del septum se incrementó en el grupo choques+heptanona durante la estimulación odorífera con 2-heptanona (* $p<0.04$), acetona (* $p<0.01$) y orina (* $p<0.03$) vs estímulo aire. Abrev. 2HEP (2-Heptanona), 3HEP (3-Heptanona), ACET (acetona), ORIN (orina del propio animal). La respuesta a la estimulación eléctrica en el bulbo olfatorio accesorio ($p<0.03$), benceno (NS) y metanol (NS), no se muestran. Cada barra representa la media \pm el error estándar.

Por lo que respecta a la actividad multineuronal de la amígdala basolateral el ANOVA de una vía para muestras repetidas no mostró diferencias significativas en el grupo control ($F:7, 36=1.32, p<0.268, NS$) y en el grupo choques ($F: 7,40= 0.944, p<0.484, NS$). Sin embargo, el análisis mostró diferencias significativas ($F: 7, 35= 2.45, p<0.03$) sólo para el grupo choques+heptanona, con respecto a los diferentes estímulos odoríferos ensayados cuando fueron comparados con el estímulo aire. Ante la estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio, la actividad de la amígdala basolateral incrementó significativamente ($t=-5.92, gl 10, p<0.0001$). Asimismo, se observó un incremento significativo con la estimulación odorífera de 2-heptanona ($t=-2.29, gl 10, p<0.04$, ver figura 16), 3-heptanona ($t=-2.40, gl 10, p<0.03$) y orina de la misma rata ($t=-2.57, gl 10, p<0.02$). No se encontraron diferencias significativas con la acetona ($t=-1.86, gl 10, p<0.09, NS$), metanol ($t=-0.837, gl 10, p<0.422, NS$) y benceno ($t=-0.613, gl 10, p<0.553$), ver fig. 22.

ESTIMULACIÓN ODORÍFERA ACTIVIDAD MULTINEURONAL DE LA AMÍGDALA BASOLATERAL

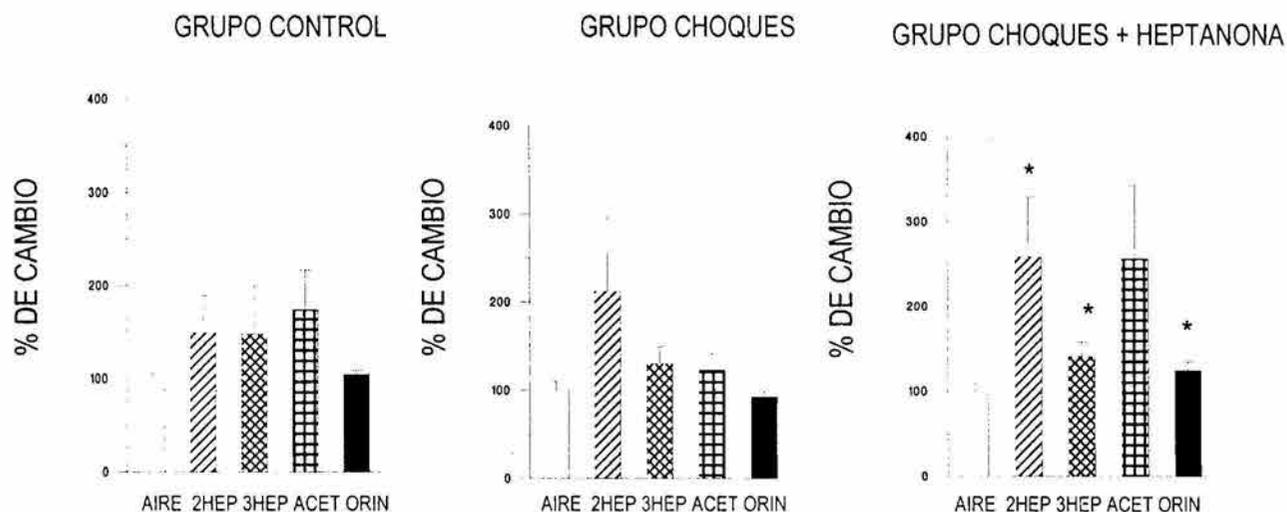


Fig. 22. Porcentaje de cambio de la actividad multineuronal de la amígdala basolateral durante la estimulación odorífera. La actividad multineuronal de la amígdala se incrementó en el grupo choques+heptanona durante la estimulación odorífera con 2-heptanona ($p<0.04$), con 3-heptanona ($p<0.03$) y con la orina del propio animal ($p<0.02$). Abrev. 2HEP (2-Heptanona), 3HEP (3-Heptanona), ACET (acetona), ORIN (orina de la propia rata). La respuesta a la estimulación eléctrica en el bulbo olfatorio accesorio ($p<0.0001$), benceno (NS) y metanol (NS), no se muestran. Cada barra representa la media \pm el error estándar.

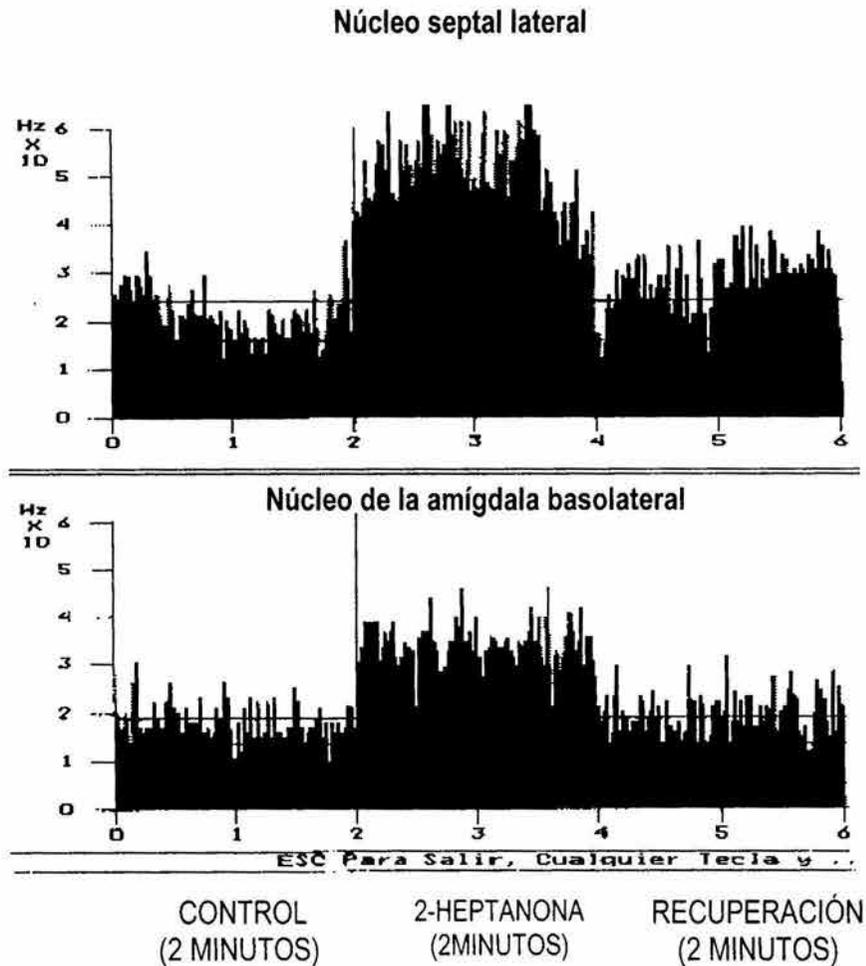


Fig. 23. Actividad multineuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral durante la estimulación olfativa con 2-heptanona en animales del grupo choques+heptanona con la preparación de encéfalo aislado. En el eje de la abcisa se encuentra representado el tiempo de registro. Los dos primeros minutos correspondieron a la actividad basal del septum lateral (panel superior) y de la amígdala basolateral (panel inferior), del minutos 2 al minuto 4 correspondió a la estimulación odorífera con la sustancia; los dos últimos minutos indican el registro post-estimulación. El eje de la ordenada representa la actividad multineuronal expresada en ciclos por segundos (Hz) x 10.

Cabe mencionar, que durante el registro de la actividad multineuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral del grupo choques+heptanona el registro EEG durante la estimulación odorífera con 2-heptanona, acetona y orina de la propia rata, la amígdala basolateral mostró actividad paroxística a 12 cps y 200 a 300 mcV que, particularmente en la amígdala basolateral progreso a crisis focales en ocasiones de duración superior a un minuto. El EEG cortical mostró actividad lenta de alto voltaje (3 cps, 200 a 300 mcV) que a menudo adoptó la morfología de onda espiga (ver fig. 24, 25 y 26).

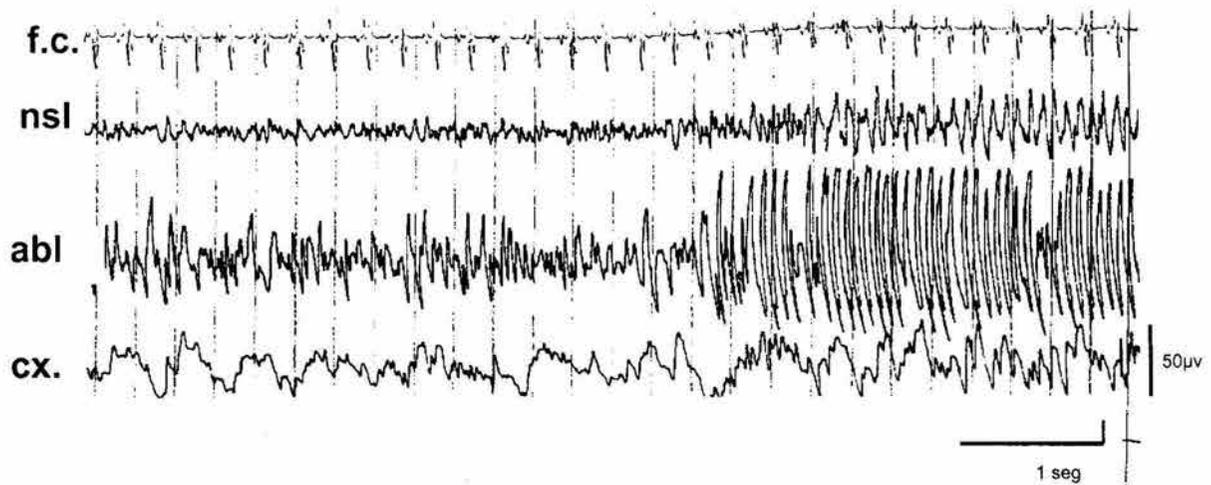


Fig.24. Actividad electrográfica del núcleo septal lateral (nsl), de la amígdala basolateral (abl) y de la corteza cerebral (Cx), producida durante la estimulación odorífera con 2-heptanona. Cal.: 1seg; 50 μ v. f.c. frecuencia cardíaca.

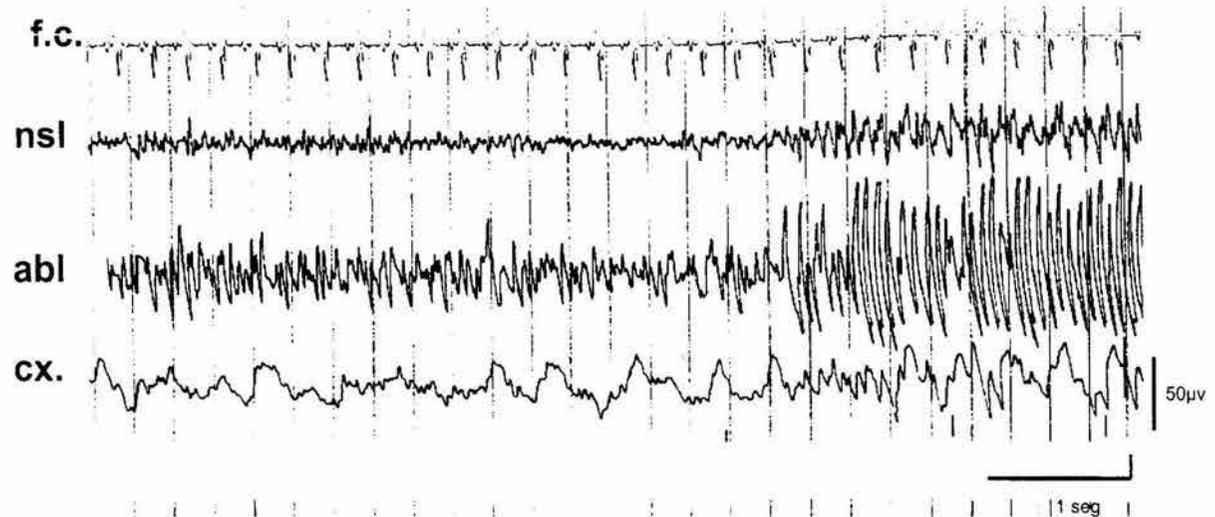


Fig. 25. Actividad electrográfica del núcleo septal lateral (nsl), de la amígdala basolateral (abl) y de la corteza cerebral (Cx), producida durante la estimulación odorífera con acetona. Cal.: 1seg; 50 μ v. f.c. frecuencia cardíaca.

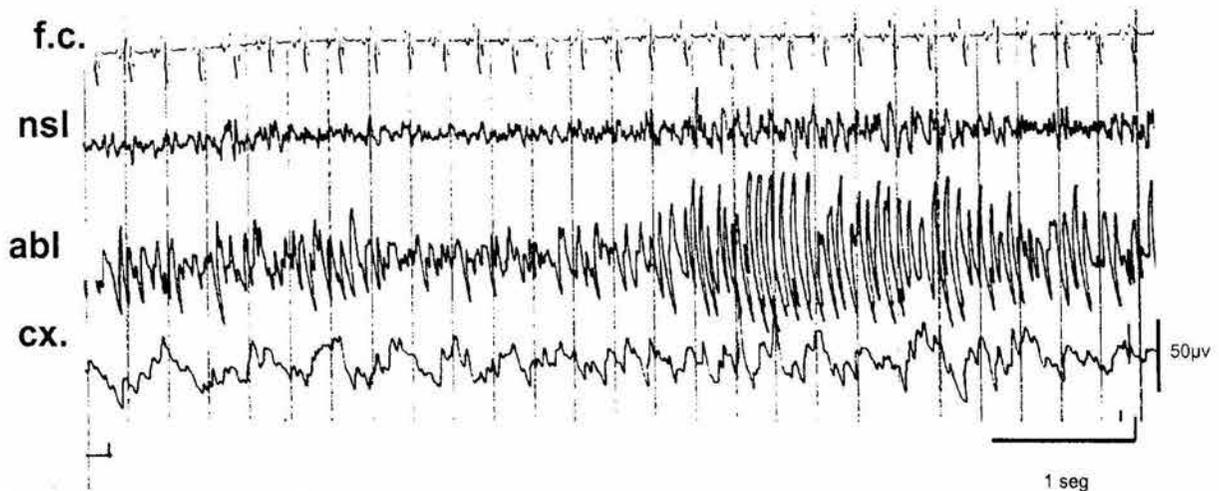


Fig. 26. Actividad electrográfica del núcleo septal lateral (nsl), de la amígdala basolateral (abl) y de la corteza cerebral (Cx), producida durante la estimulación odorífera con orina de la propia rata. Cal.: 1seg; 50 μ v. f.c. frecuencia cardíaca.

Se analizó la latencia a la aparición de la actividad paroxística en la amígdala basolateral y en el núcleo septal lateral en los animales del grupo choques+heptanona ante la estimulación odorífera con 2-heptanona, acetona y orina de la propia rata. El ANOVA de una vía indicó diferencias significativas en la latencia a la actividad paroxística de la amígdala basolateral ($F:2,15 = 5.71, p<0.01$) ante la 2-heptanona (14.50 ± 3.5 seg), acetona (6.5 ± 1.8 seg) y el estímulo orina (25.17 ± 5.4 seg), siendo la acetona la sustancia que en menor tiempo promovió la desorganización neuronal de esta estructura cerebral. Por otro lado, en el caso del núcleo septal lateral no fueron encontradas diferencias significativas en la latencia a la aparición de actividad paroxística en el grupo choques+heptanona ($F:2,14 = 3.17, p<0.07, NS$), cuando fue sometido a la inhalación de 2-heptanona (13.2 ± 4.2 seg), acetona (14.5 ± 2.8 seg) y orina de la mismas ratas (28.8 ± 7.0 seg).

6.3.5.2. Resultados del Experimento: b) Cambios de la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral ante la estimulación odorífera que emana de la orina de una rata que recibió choques eléctricos en las patas en una sesión de estrés psicosocial.

En la fig. 27 se muestra el porcentaje de cambio de la actividad multineuronal del núcleo septal lateral. El ANOVA de una vía para muestras repetidas no mostró diferencias significativas en el grupo control y en el grupo testigo-presencial en los diferentes estímulos odoríferos cuando fueron comparados con el estímulo aire. Ninguno de los estímulos olfativos que se muestran en la gráfica modificó la frecuencia multineuronal de esta estructura en ambos grupos. Aunque la estimulación con la orina de un animal estresado incrementó un 19.3 % la actividad multineuronal del núcleo septal lateral más que cualquiera de los otros estímulos, no se encontraron diferencias significativas. Tampoco se encontraron diferencias significativas con los estímulos odoríferos 2-heptanona, 3-heptanona, metanol, benceno y orina del propio animal.

**ESTIMULACIÓN ODORÍFERA
ACTIVIDAD MULTINEURONAL DEL NÚCLEO SEPTAL LATERAL**

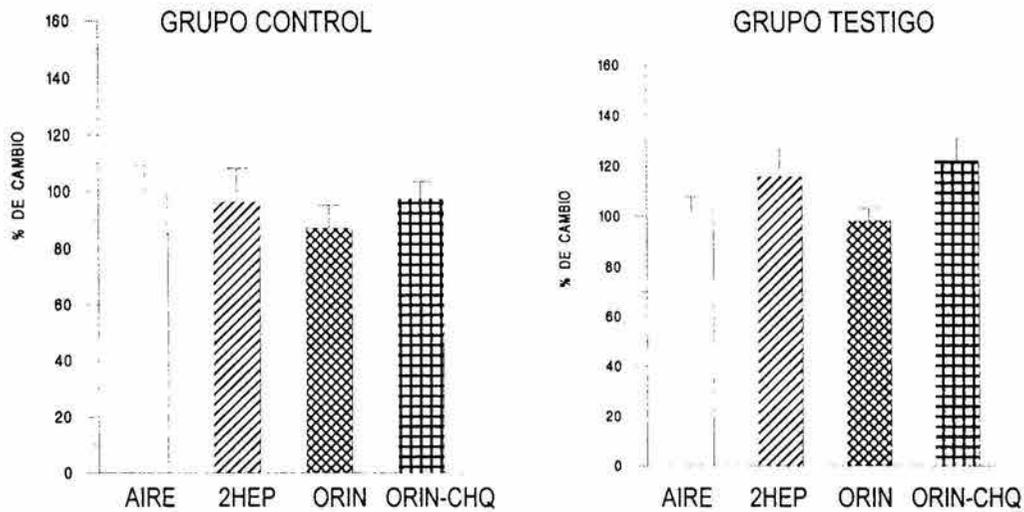


Fig. 27. Porcentaje de cambio de la actividad multineuronal del núcleo septal lateral durante la estimulación odorífera. La actividad multineuronal del núcleo septal lateral no se modificó durante la estimulación odorífera de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas. La respuesta a la estimulación eléctrica en el bulbo olfatorio accesorio ($p < 0.05$), 3-heptanona (NS), benceno (NS) y metanol (NS), no se muestran. Abrev. 2HEP (2-Heptanona), ORIN (orina del propio animal), ORIN-CHQ (orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas). Cada barra representa la media \pm el error estándar.

Por lo que respecta a la actividad multineuronal de la amígdala basolateral el ANOVA de una vía para muestras repetidas no mostró diferencias significativas en el grupo control; mientras que el análisis de varianza indicó diferencias significativas ($F:7,56=3.99$, $p < 0.0008$) en el grupo testigo-presencial en los diferentes estímulos odoríferos cuando fueron comparados con el estímulo aire. La estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio incrementó (63.5%) de manera significativa ($p < 0.05$) la frecuencia multineuronal del núcleo de la amígdala basolateral. La actividad multineuronal del núcleo de la amígdala basolateral también se incrementó (31.9 %) de manera significativa ante el estímulo orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas ($p < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas con los estímulos odoríferos 2-heptanona, 3-heptanona, metanol, benceno y orina del propio animal. En la fig. 28, se muestran los mismos estímulos odoríferos que se representa en la fig. 27.

ESTIMULACIÓN ODORÍFERA

ACTIVIDAD MULTINEURONAL DE LA AMÍGDALA BASOLATERAL

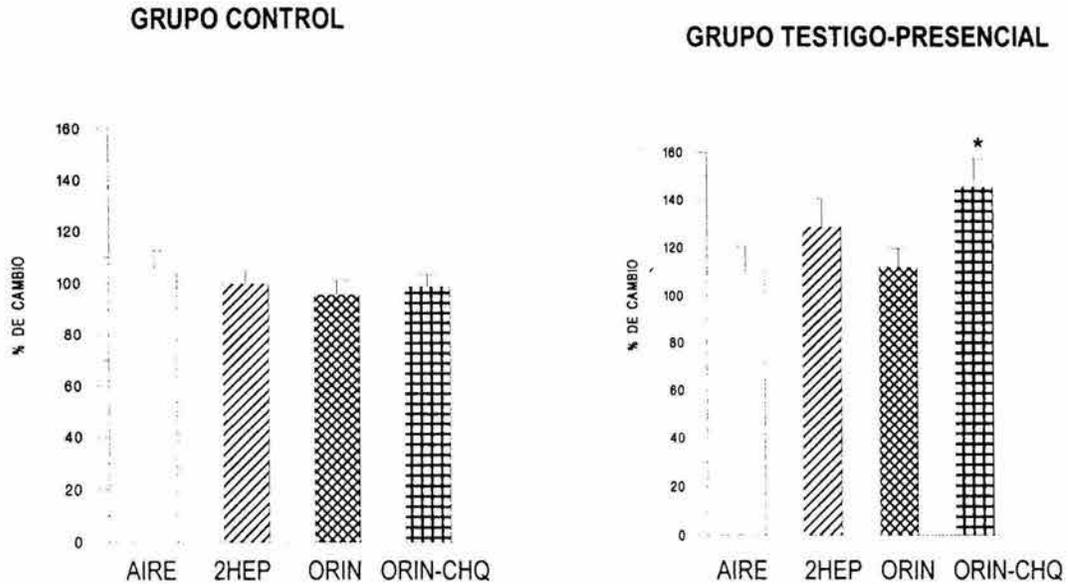


Fig. 28. Porcentaje de cambio de la actividad multineuronal de la amígdala basolateral durante la estimulación odorífera. La actividad multineuronal del núcleo de la amígdala basolateral se incrementó en el grupo testigo-presencial durante la estimulación odorífera de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas (* $p < 0.03$, t-pareada). Las respuestas ante la estimulación eléctrica del bulbo olfatorio accesorio ($p < 0.05$), 3-heptanona (NS), benceno (NS) y metanol (NS), no se muestran. Abrev. 2HEP (2-Heptanona), ORIN (orina del propio animal), ORIN-CHQ (orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas). Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$ Dunnett.

6.3.5.3. Resultados del Experimento: c) Análisis cromatográfico acoplado a espectrometría de masas de muestras de orina de animales control, animales sometidos a choques eléctricos en las patas y de animales testigo-presenciales sometidos a estrés psicosocial.

De acuerdo a los resultados obtenidos por la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, una de las sustancias volátiles identificadas en las muestras de orina de cada uno de los grupos fue la 2-heptanona. La concentración de esta sustancia en la orina del grupo testigo-presencial y del grupo choques fue 7 veces el valor del grupo control (tabla 9). Sin embargo, los valores del grupo testigo se redujeron con el tratamiento con diazepam (1 mg/Kg) a los valores del grupo control. El

tiempo de retención para la identificación de la sustancia fue de 12.69 a 12.79 minutos. En la fig. 29, se muestran los cuatro cromatogramas obtenidos de las muestras de orina de los grupos control, testigo-presencial, choques y testigo+diazepam. Asimismo, se anexa la lista de compuestos identificados en cada uno de estos cromatogramas.

Tabla 9. Concentración del volátil urinario 2-heptanona identificado en las muestras de orina de ratas macho de la cepa Wistar.

Grupos	2-heptanona $\mu\text{g/ml}$
Control	40.0
Testigo-presencial	290.0
Choques	270.0
Testigo+Diazepam	70.0

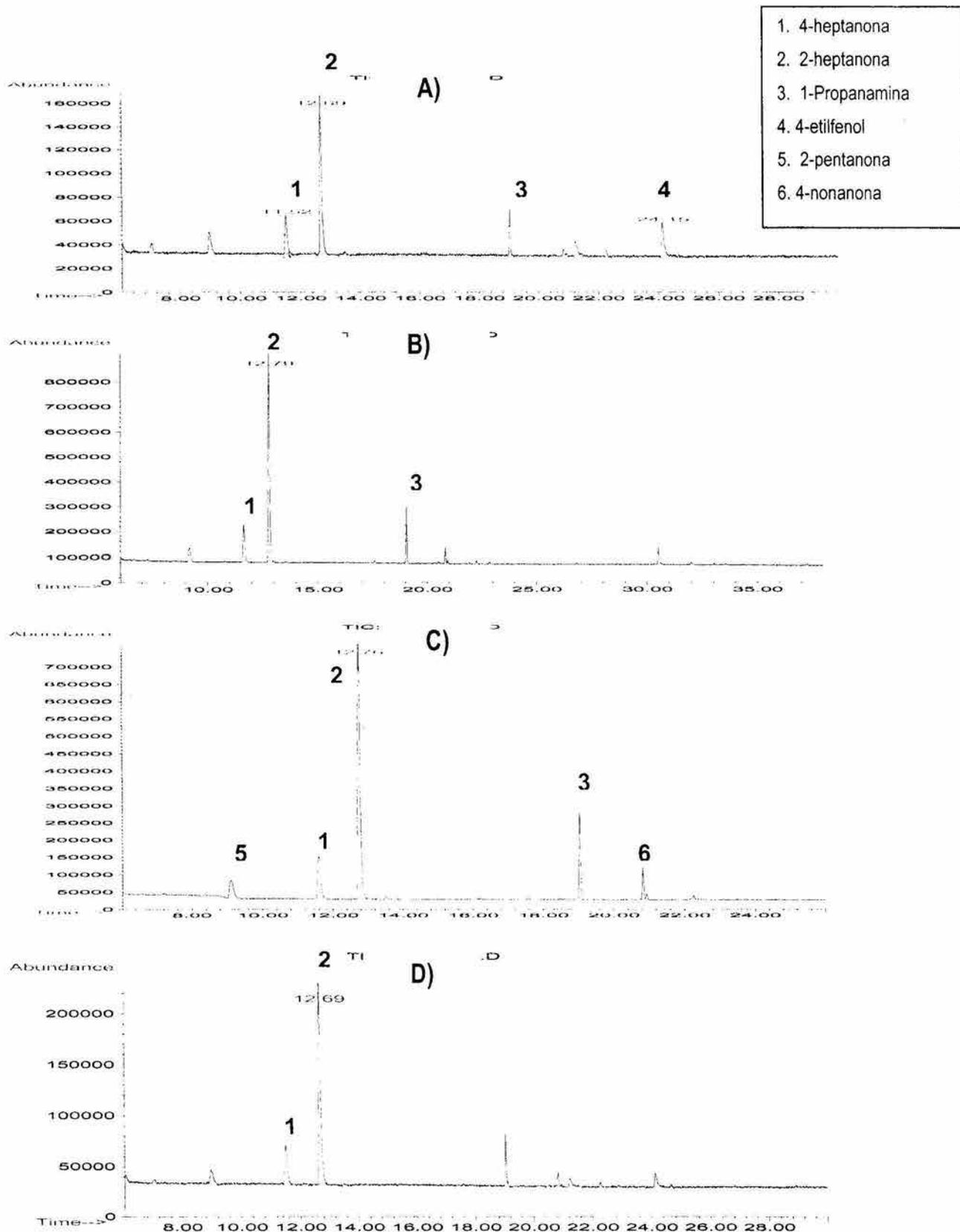


Fig. 29. Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles urinarios encontrados en las muestra de orina de ratas macho de la cepa Wistar. A) Grupo control, B) Grupo testigo-presencial, C) Grupo choques, D) Grupo testigo+diazepam. El número indica los compuestos volátiles que aparecen en el recuadro de la derecha y los cuales fueron identificados por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

6.3.6. DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 3. Determinación de los efectos de sustancias urinarias volátiles, estresoras, sobre dos estructuras límbicas.

En el experimento 3a encontramos que una sola exposición a la 2 heptanona, fue suficiente para desencadenar un incremento significativo de la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral cuando el animal fue reexpuesto a dicha sustancia. Es decir, en el grupo denominado choques+heptanona el estímulo condicionante está representado por los choques aplicados de manera inescapable en las patas, mientras que el estímulo condicionado correspondió a la inhalación de 2-heptanona aunado a la aspiración de los propios olores emanados del animal durante la prueba. El grupo choques tendría entonces como estímulo condicionante los choques y como condicionado su propio olor. En el grupo control estuvieron ausentes ambos componentes. Entonces, la situación de condicionamiento pudo haber ocurrido sólo en los dos grupos experimentales; sin embargo, las respuestas a la estimulación odorífera sólo se observaron en el grupo que asoció la inhalación de 2-heptanona (con sus propios olores) y los choques eléctricos. Lo que es sugerente de que el estímulo realmente condicionado está representado por esta sustancia cetónica y alguna que queda por determinar en la orina de estos animales. Por lo tanto, sugerimos de este experimento que para que una sustancia odorífera sea capaz de desencadenar cambios electrofisiológicos en la actividad neuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral, se requiere que dicha sustancia esté asociada a un estímulo aversivo para que sea reconocida y entonces quizás evitada. Es decir, un determinado mensajero químico puede llegar a desencadenar diversas reacciones conductuales dependiendo del contexto en el cual es emitido. Una sustancia por sí sola sería incapaz de desencadenar un estado de desesperanza o ansiedad, sin que exista un contexto por el cual debe ser emitida. En un trabajo de Richardson (2000) se demostró que un olor biológicamente neutro (por ejemplo, la uva) previamente pareado con la aplicación de choques eléctricos en las patas, incrementa de manera significativa la respuesta de alarma en ratas. Aun así queda por explorar el efecto de pruebas cruzadas, es decir, evaluar el posible efecto de la orina de los animales condicionados en aquellos que no lo fueron. Y desde luego identificar esa sustancia que estando presente en la orina de los animales condicionados promovió estos cambios y llevar a cabo diferentes ensayos que determinen los efectos de dichas sustancias sobre el comportamiento y la motivación.

Por otro lado, en el experimento 3b encontramos que los animales del grupo testigo-presencial despliegan un incremento significativo de la actividad multineuronal sólo de la amígdala basolateral, ante la

estimulación odorífera con la orina de animales que fueron estresados por choques eléctricos en las patas, no siendo así para la propia orina emanada del testigo. Asimismo, observamos que en esta ocasión la 2-heptanona no incrementó la actividad neuronal en ninguno de los dos grupos estudiados, por lo que podemos inferir que el estímulo realmente condicionando a la situación de estrés psicosocial para los animales del grupo testigo-presencial, estuvo representado por la orina de los animales que fueron estresados por choques eléctricos en las patas. Estas diferencias en la respuesta multilineal ante la presentación de un estímulo odorífero "natural" quizás se deba en parte a la implicación que cada una de estas estructuras límbicas tiene en la ansiedad y en la desesperanza.

La amígdala está compuesta por varios núcleos que están conectados recíprocamente con el hipotálamo, la formación hipocámpal, la neocorteza y el tálamo. Los núcleos basolaterales de la amígdala reciben una gran cantidad de información aferente de todas las modalidades sensoriales, por lo que existen evidencias que indican que la información sensorial subyacente a varios estados emocionales aprendidos, en particular el miedo y la ansiedad, atraviesan el complejo basolateral amigdalino (Kandel, 1997). Por ejemplo, las lesiones del complejo basolateral suprimen el condicionamiento clásico del miedo. En el condicionamiento del miedo un estímulo inicialmente neutro (como puede ser una luz o un sonido) que no evoca respuestas autónomas por sí mismo se empareja entonces con un estímulo aversivo como una descarga eléctrica en la pata del animal, el cual produce dolor, miedo y respuestas autónomas. Después de varios emparejamientos, el sonido por sí mismo provoca reacciones de miedo, tales como el congelamiento concurrente con cambios en la frecuencia cardíaca o en la presión sanguínea. Las lesiones de la amígdala o la infusión local de fármacos que reducen la ansiedad, no sólo bloquean las respuestas aprendidas a los estímulos de miedo, sino también las que son innatas (LeDoux et al., 1988). Por ejemplo, estas ablaciones reducen marcadamente la emotividad en ratas feroces. Por tanto, la amígdala no sólo es importante para el miedo aprendido sino también lo es para el miedo incondicionado, innato. De hecho, las lesiones de la amígdala bloquean la memoria de los estímulos sensoriales emocionalmente significativos.

La integridad de la amígdala es necesaria para el condicionamiento de un organismo en el entorno en el que vive (Davis, 1992; LeDoux, 1987); es decir, se reconoce que la sobrevivencia de un organismo depende de las conductas que eleven al máximo el contacto con ambientes biológicamente seguros y reduzcan al mínimo el contacto con ambientes peligrosos. Muchos de estos peligros pueden modificarse con la experiencia. Dicha modificación puede demostrarse experimentalmente con un condicionamiento de

lugar preferencial en el que un animal aprende a aumentar sus contactos con ambientes en los cuales ha encontrado previamente estímulos reforzantes positivos (sexo, alimento, bebida) y a disminuir los contactos con ambientes que son aversivos o peligrosos. De manera particular, las señales químicas son fundamentales para asociar los estímulos de lugar con el valor de la recompensa de tal manera que el organismo emite una respuesta de preferencia o de evitación al lugar que visita. Existen numerosas investigaciones al respecto, las cuales señalan que cuando existe una señal química aversiva en el ambiente los animales apenas visitan al estímulo y cuando lo hacen, el tiempo transcurrido en dicho lugar es muy corto, es decir muestran reacciones de evitación (Müller-Valten, 1966 ref. en Rottman y Snowdon, 1972; Carr et al., 1970; Rottman y Snowdon, 1972; King et al., 1975). Por ejemplo, se ha demostrado que los animales dominantes emiten señaladores aversivos en su orina cuando realizan marcaje territorial (Jemiolo et al., 1992) y los subordinados, aprenden el significado potencial de este estímulo odorífero y evitan el área del dominante. Sin embargo, también es posible sugerir que esta evitación del territorio del animal dominante se debe en parte a la experiencia previa que el subordinado haya tenido con respecto al macho dominante. Es decir, los animales que establecen colonias o que viven en grupo, tienden a establecer jerarquías, por lo que cada uno de los integrantes tendrá una posición dominante o subordinada con respecto a los demás. Una vez establecida la jerarquía, los subordinados se retiran o adoptan una postura sumisa al acercarse el dominante y rara vez hay intentos de rebelión (Hinde, 1977). La dominancia entre individuos en grupos sociales es típicamente definida en términos de comportamientos agonísticos en los machos dominantes (ataques ofensivos o agresivos) y un comportamiento defensivo y sumiso emitido por el subordinado (para revisión ver Gutiérrez-García y Contreras, 2000, **apéndice B**). Es indudable, que estos encuentros deben propiciar el reconocimiento de olores entre ambos individuos, de tal manera, que el subordinado procura alejarse del dominante y su miedo se debe en parte a la situación estresante y aversiva que representó el enfrentamiento cuando se estableció la jerarquía y se asoció con el olor que el animal dominante emitió durante la confrontación de derrota (Müller-Valten, 1966 ref. en Rottman y Snowdon, 1972; Carr et al., 1970) y del marcaje territorial (Jemiolo et al., 1992).

Si tratamos de explicar este mismo proceso en una situación experimental como la de nuestro estudio lo podríamos hacer de la siguiente manera: un olor específico quizá novedoso como la 2-heptanona fue asociado a un estímulo aversivo (choques eléctricos en las patas). Veinticuatro horas después, al someter a la rata a la reexposición del olor (2-heptanona), la rata desarrolló un incremento significativo en la actividad neuronal de dos estructuras límbicas relacionadas con estados emotivos, pero

sólo ante la presencia de sustancias pertenecientes a la familia de las cetonas: la 2-heptanona, la 3-heptanona, la acetona y de manera relevante también lo hizo a la orina, lo que podría estar indicando un reconocimiento aversivo al olor manifestado electrofisiológicamente por medio del incremento en la actividad neuronal. En este punto es conveniente recordar que la orina contiene de manera natural muchos compuestos del grupo cetónico, los cuales resultan ser candidatos a definir en cuanto a su presencia en la orina de esos animales y la 2-heptanona, no es una excepción y aunque no existe ningún antecedente que indique su presencia en la orina de animales estresados, esta sustancia se excreta de manera natural en la orina de ratones hembra (Novotny et al., 1984) y podemos suponer que los cambios en su concentración podrían variar de acuerdo a las situaciones estresantes a las que las ratas son sometidas en base al análisis de los cromatogramas que obtuvimos de las muestras de orina de los animales estudiados. Por otro lado, las diferencias encontradas en la latencia a la aparición de la desorganización neuronal, podría depender de las propiedades fisicoquímicas de las sustancias, como sería su liposolubilidad, por ejemplo, los umbrales para la identificación de las sustancias odoríferas disminuyen a medida que aumenta la liposolubilidad de la molécula odorífera (Purves et al., 1997).

El reconocimiento a estos olores posiblemente esté modulado por el órgano vomeronasal, dado que la estimulación eléctrica del núcleo olfatorio accesorio también provocó un incremento significativo de la actividad multineuronal tanto de la amígdala basolateral como la del núcleo septal lateral. Esta suposición está basada en que la amígdala recibe entradas del órgano vomeronasal vía núcleo olfatorio accesorio. A su vez, el núcleo medial de la amígdala envía proyecciones al núcleo septal lateral utilizando como mediador químico a la vasopresina. Esta vía, ha sido relacionada con el reconocimiento social entre conespecíficos (Sheehan y Numan, 2000). En un estudio reciente, se demostró que el someter a animales a olores de conespecíficos estresados por choques eléctricos en las patas, provoca una serie de cambios conductuales y fisiológicos. Por ejemplo, estas sustancias de alarma son capaces de provocar congelamiento, husmeo e incremento de la locomoción, así como un incremento de la temperatura corporal. Estos cambios se asocian con un incremento de la proteína c-Fos en la capa de células mitrales en el bulbo olfatorio accesorio (Inamura et al., 1999; Kikisui et al., 2001). Estos resultados sugieren que las supuestas sustancias de alarma secretadas por conespecíficos estresados podrían constituir parte de una serie de sustancias que promoverían cambios tanto conductuales como fisiológicos quizás mediados por una activación vía núcleo olfatorio accesorio.

Por otro lado, el incremento de la actividad neuronal de la amígdala se ha asociado al miedo y a la ansiedad, ya que la estimulación directa por medios eléctricos a la amígdala o bien a través de una inyección local de un aminoácido excitatorio, el animal muestra signos fisiológicos y conductuales de miedo y agitación; mientras que su estimulación a largo plazo produce enfermedades inducidas por el estrés, como las úlceras gástricas (Henke, 1982). Es posible entonces, que las respuestas autónomas y endocrinas controladas por la amígdala sean las responsables de los efectos dañinos del estrés psicosocial a largo plazo. En este sentido, se ha demostrado que animales forzados a derrotas constantes sufren mayores erosiones y hemorragias gástricas comparados con los animales control (Kudryavtseva et al., 1991), lo que sugiere la participación de la amígdala en la regulación de estas respuestas, las cuales también pudieran ser dependientes de estímulos odoríferos emitidos durante la situación social de conflicto. De manera contraria, cuando las ratas son sometidas a estrés provocado por congelamiento, también desarrollan úlceras gástricas, pero éstas se reducen si en forma simultánea al estrés se les estimula eléctricamente el núcleo septal lateral (Yadin y Thomas, 1996).

En este sentido, nuestro grupo de trabajo y otros, hemos demostrado que el núcleo septal y otras estructuras límbicas, están relacionadas con conductas motivadas y hedónicas (Thomas et al., 1991), el septum es una estructura blanco para la acción de diversos fármacos antidepresivos (Contreras et al., 1989, 1990), los cuales incrementan de manera significativa su tasa de disparo evaluada mediante el registro de la actividad unitaria extracelular del septum y si en la depresión el síntoma cardinal es la anhedonia o falta para experimentar placer, luego entonces, es de suponerse que exista un decremento en la actividad neuronal de este núcleo (Contreras et al., 1989). En el estudio 3a, paradójicamente, encontramos un incremento de la frecuencia de disparo del núcleo septal lateral ante la sustancia con la cual llevamos a cabo el condicionamiento aversivo, pero este incremento no puede atribuirse o relacionarse a un estado placentero o hedónico, dado que en el registro EEG observamos actividad paroxística, en lugar de un aumento sostenido de la frecuencia de disparo como lo hacen los antidepresivos. Es decir, el aumento de la frecuencia de la actividad multiunitaria correspondió a fenómenos de desorganización de la actividad neuronal, más que a un incremento sostenido.

Este fenómeno electrofisiológico podría estar representando una condición particular en la que la actividad neuronal de estas estructuras se distorsiona ante la presencia de ciertos compuestos que sirven como señaladores químicos aversivos y que pudieran estar presentes en la orina de los roedores. Lo cual

de ser verificado podría extrapolarse a una extraordinaria desorganización de la actividad neuronal en otros animales con sistema nervioso menos desarrollado y formado por enjambres de ganglios neuronales, como es el caso de los insectos, para quienes una desorganización neuronal de este tipo podría determinar la emisión de pautas conductuales definitivas como sería la aversión a sitios específicos de donde emanan estos olores y, en el caso de los mamíferos reacciones diversas de huida, ataque y aversión. Sin embargo, estas respuestas se esperarían en una situación a corto plazo. En el experimento 3b, no se observaron cambios significativos en la actividad del núcleo septal lateral. Creemos que falta demostrar si la actividad del núcleo septal y de la amígdala se modifica cuando los animales son sometidos de manera crónica al olor de un animal estresado, logrando así determinar el papel de ambas estructuras en la ansiedad y en la desesperanza inducida en una situación de estrés psicosocial. Por ahora, podemos decir, que los olores provenientes de la orina de un animal estresado y previamente condicionado a un olor específico, pueden llegar a promover una desorganización neuronal que promueve una serie de cambios conductuales en donde el individuo emite una serie de conductas para enfrentar situaciones aversivas a través de la evitación o la huida. El incremento de la actividad de la amígdala podría contribuir a expresar ansiedad como un mecanismo biológico de protección para mantener la integridad de los animales en una situación de emergencia a corto plazo.

Algunas sustancias como la 2-heptanona y otras cetonas cíclicas de volatilidad semejante, han sido encontradas en muchas especies de insectos (Regnier y Law, 1968). La mayoría de las sustancias que han sido consideradas como feromonas de alarma, implican cetonas de 6-8 carbonos o ésteres y las cuales dependiendo de su concentración y disposición en el ambiente pueden ser capaces de desencadenar diversos patrones conductuales, entre ellos la evitación (Verdejo-Vivas, 1978). La 2-heptanona (metil *n*-amil cetona) es una sustancia cetónica de 7 carbonos que es secretada de manera natural en la orina de ratones hembra de la cepa C57BL/10 y *Mus musculus*. Su concentración varía significativamente durante las fases del ciclo estral (Schwende et al., 1984; Andreolini et al., 1987). En nuestro estudio, se decidió utilizar como estímulo condicionado a la 2-heptanona, por ser una sustancia cetónica muy volátil y como mencionamos anteriormente, al menos en insectos, ha sido reconocida como una sustancia de alarma que se secreta en la glándula mandibular de abejas y hormigas (Regnier y Law, 1968). En mamíferos, algunos de los estudios realizados con la 2-heptanona han sugerido que parece no tener propiedades neurotóxicas a nivel del sistema nervioso periférico (Lynch et al., 1981), sin embargo, no existe ningún estudio que haya probado su neurotoxicidad en el sistema nervioso central, pero tampoco

sobre sus efectos sobre el comportamiento animal en ratas de laboratorio (Anger et al., 1979). Los únicos reportes son los de Novotny y colaboradores (1984) quienes han demostrado un incremento significativo de la 2-heptanona en las fases de proestro-estro y lo cual quizás guarde relación con la actividad feromonal en la fase reproductiva del ratón hembra, sin que su significado biológico sea claro. En el caso del humano, la 2-heptanona se encuentra de manera natural formando parte de una serie de compuestos volátiles presentes en la orina, los cuales han sido determinados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Albone, 1984). Sin embargo, en diversas enfermedades como la diabetes mellitus, la 2-heptanona se encuentra incrementada significativamente y regresa a niveles basales una vez que el enfermo es tratado adecuadamente (Liebich, 1983). Por tanto, los efectos de la 2-heptanona sobre el comportamiento y sus posibles acciones en estructuras cerebrales merecen ser abordados en diversas investigaciones para poder explicar algunos de los comportamientos modulados por estas sustancias volátiles.

La 2-heptanona fue encontrada en la orina de nuestro animales y lo más notable es que su concentración varió considerablemente dependiendo de la manipulación experimental. Se sabe que, en algunas especies de insectos, las sustancias de alarma tienen principalmente dos finalidades, a bajas concentraciones actúan como simples atrayentes, convocando a los comuneros, haciendo factible un rechazo masivo hacia el incordiante. Las mismas sustancias a concentraciones superiores, producen un estado específico de alta excitación y se evidencia un comportamiento agresivo y evasivo. Estas sustancias de alarma y las mejores conocidas –entre ellas la 2-heptanona-, siguen siendo las más utilizadas por las hormigas; en ellas, se han detectado de 20 a 25 sustancias químicas capaces de inducir alarma y han sido identificadas en unas cuarenta especies, de unos quince géneros (Verdejo-Vivas, 1978). Todavía es en gran medida especulativo cuáles de estas diversas categorías son las más importantes, pero lo cierto es que todas constituyen posibles medios de transferencia de información, no sólo en los himenópteros (hormigas, abejas, avispas, entre otros) sino en muchísimos insectos, otros invertebrados y posiblemente también en mamíferos. Hace tiempo que Wilson (1968, ref. en Thorpe, 1974) enumeró los diversos modos en que los sistemas químicos pueden ajustarse para potenciar la especificidad de las señales o para incrementar la tasa de transferencia de información. Su clasificación involucra el ajuste del tiempo de desvanecimiento de la sustancia, expansión del espacio activo, pauta temporal de las feromonas, uso de múltiples glándulas exocrinas, mezcla de feromonas, variación de la concentración y la duración, así como el cambio de su significado biológico según el contexto. Es decir, en condiciones

naturales, las sustancias de alarma rara vez son secretadas en ausencia de otras señales sensoriales y nunca actúan fuera de un contexto ambiental. Por tanto, para que la comunicación química resulte efectiva, es necesario que se encuentren presentes una serie de factores físicos, sociales y ambientales (Novotny et al., 1990).

Es muy posible sugerir que la 2-heptanona sea una de las sustancias de alarma que induzca cambios conductuales relacionados con la motivación en las situaciones experimentales que llevamos a cabo en el presente proyecto de investigación. Sin embargo, hace falta estudios para tratar de dilucidar en qué medida esta sustancia podría estar participando como inductora de pautas equivalentes a la ansiedad y a la depresión. De acuerdo a los trabajos de Novotny y colaboradores (1984), esta sustancia parece ser dependiente de hormonas. En un estudio de este grupo de investigadores, se encontró que la 2-heptanona incrementa su concentración en las fases de proestro-estro en ratones hembra, lo cual nos hace suponer que posiblemente también se encuentre elevada en ratas gestantes y ésta tenga como función ser una sustancia de alarma para impedir que otros individuos de la misma especie se acerquen al nido. El papel biológico de la orina de ratas estresadas está abierto a especulación. Sin embargo, es posible sugerir que la 2-heptanona podría ser un mensajero químico en ratas de laboratorio. Es necesario, llevar a cabo pruebas biológicas para entender el papel potencial de estas sustancias y sus análogos sintéticos, tanto en ratas macho como en hembras.

Por último, el reconocimiento y la discriminación de los olores así como el de la transducción y procesamiento de la señal odorífera parece estar mediada por mecanismos fundamentalmente similares a lo largo de toda la escala filogenética. Se ha sugerido, que los animales más simples desarrollaron circuitos específicos en los que se pudiesen formar tipos específicos de asociaciones, y que durante el curso de la evolución posterior estos circuitos específicos fueron empleados de modo más general y plástico en los animales superiores. Esto es consistente con la hipótesis ya mencionada que partiendo de estudios comparados de conducta animal es probable que las capacidades específicas para aprender y recordar hubieran evolucionado cuanto tuvieran valor de sobrevivencia (Rosenzweig y Leiman, 1992). Así, los patrones conductuales que emite un insecto ante una determinada feromona de alarma, no parecen diferir en mucho a la encontrada en los mamíferos, por lo que aparentemente estas estrategias se conservan filogenéticamente. Así, los estudios comparativos pueden hacer contribuciones importantes para entender diversos estados emocionales modulados por el sentido del olfato (Krieger y Heinz, 1999).

En síntesis, la 2-heptanona tiene la capacidad de desorganizar la actividad al menos de la amígdala y del núcleo septal lateral, lo que podría asociarse con su capacidad como marcador. Por otro lado, la orina de un animal estresado contiene esta sustancia que posiblemente sea capaz de producir reacciones conductuales y modificar la actividad neuronal de al menos la amígdala en un animal sometido a la percepción del olor.

7. CONCLUSIONES GENERALES

7.1. Una sola sesión de estrés psicosocial inducido en una caja de dos compartimentos incrementa la actividad locomotriz y decremento la inmovilidad exhibida por las ratas testigo en la prueba de nado forzado. Este decremento en la inmovilidad parece estar asociado a un estado ansioso, tomando en cuenta que se observó un incremento del tiempo total de enterramiento, lo cual fue revertido por el diazepam.

7.2. La exposición prolongada a los olores provenientes de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas parece constituir un estresor que incrementa la inmovilidad en la prueba de nado forzado. El efecto anti-inmovilidad producido por la administración de imipramina revirtió este efecto, lo que es sugerente de que se induce un estado de desesperanza.

7.3. Una sola sesión de exposición a un estímulo odorífero específico, la 2-heptanona, incrementó de manera significativa la actividad multineuronal del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral, siempre y cuando se asocie a una situación aversiva. Lo que es sugerente de que el estímulo condicionado está representado por la sustancia cetónica.

7.4. La orina parece ser parte de un estímulo condicionado que se libera en una situación social de conflicto que es capaz de incrementar la actividad electrofisiológica al menos de la amígdala basolateral de la rata testigo-presencial.

7.5. La 2-heptanona fue identificada en la orina de ratas macho de la cepa Wistar y su concentración parece modificarse de acuerdo a la manipulación experimental y tratamiento farmacológico al que el animal es expuesto.

8. MODELO TEÓRICO

Los primeros estudios relacionados con las sustancias de alarma en roedores son los de Müller-Velten en 1966 (Zalaquett y Thiessen, 1991), quien demostró que el ratón *Mus musculus* escapa de aquellos lugares en los que está presente el olor proveniente de la orina de ratones estresados. Estos ratones también escapan de conespecíficos que recibieron choques eléctricos en las patas o de aquellos que fueron derrotados durante una contienda con un macho dominante (Carr et al., 1970). La orina desencadena comportamientos de evitación en presencia de un sistema olfativo intacto capaz de percibir dichos olores (Vanderbergh, 1994); sin embargo, el aislamiento social atenúa esta respuesta (Rottman y Snowdon, 1972), lo que sugiere que se trata de una conducta establecida genómicamente pero que se modifica con la experiencia social.

Las relaciones sociales que se establecen entre individuos de la misma especie o de especies distintas son interdependientes y permiten el intercambio de información mediante complejos sistemas de señalización, lo que permite asegurar la sobrevivencia tanto de los individuos como de las especies. En cualquier comunicación, se requiere de un emisor quien va a dirigirse a uno o varios receptores con el objetivo de socializar un mensaje, al hacerlo de dominio común. Así, la comunicación tiene como finalidad hacer efectiva nuestra naturaleza social. En una comunicación intraespecífica, se requiere de, a) un emisor quien va emitir el mensaje; b) el mensaje, es decir, el conjunto de señales dirigido hacia un, c) receptor quien recibirá e interpretará dicho mensaje. Se tiene un, d) contexto, que consiste en el marco de referencia en que se dará la comunicación incluyendo la serie de circunstancias internas o externas, elementos físicos y situaciones que rodean y pueden incluso alterar el sentido del mensaje. Finalmente, se tiene un, e) código que contiene el patrón de señales que harán posible el mensaje siempre y cuando sean de dominio común y por último, f) un canal, es decir, el medio o el instrumento por el cual se enviará o transmitirá dicho mensaje.

En nuestro estudio, la comunicación química estableció el mensaje e involucró tanto la producción como la recepción de las señales químicas. El emisor, estuvo representado por el animal que fue sometido a los choques eléctricos en las patas, quien al parecer emitió mensajeros químicos que tuvieron como finalidad alertar a un receptor de la presencia de un peligro inminente o potencial. El receptor, representado por nuestro sujeto testigo-presencial, debió contar con un sistema capaz de detectar el mensaje químico

enviado por su compañero. En este sentido, en los mamíferos, la percepción sensorial olfatoria está mediada anatómica y funcionalmente por dos distintos órganos sensoriales: el epitelio olfativo principal y el órgano vomeronasal (Liman et al., 1999), este último constituye el sistema de recepción de señales químicas con actividad feromonal (Keverne, 1999). Entonces, la comunicación intraespecífica entre los dos individuos involucrados en la situación experimental empleada en nuestro estudio ocurrió de la forma ilustrada en la figura 30, en la que los puntos relevantes son la emisión de un mensaje químico y la capacidad de reconocerlo.

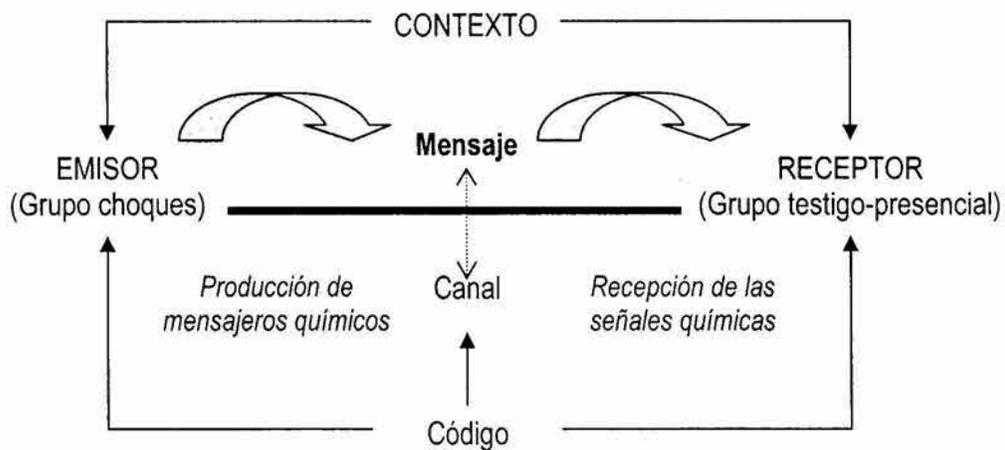


Fig. 30. Esquema de la comunicación intraespecífica generada en una caja de comunicación de dos compartimentos empleada en la presente investigación (modificado de Sol-Tlachi, 2000).

8.1. El receptor y la recepción de las señales químicas

El grupo testigo-presencial desplegó ansiedad evaluada en la prueba de enterramiento defensivo, cuando fue expuesto a las vocalizaciones y al olor emanado de un compañero que recibió choques eléctricos en las patas, lo que se confirma dado que los cambios de la ejecución de la prueba fueron revertidas por un ansiolítico, el diazepam. Adicionalmente, cuando el testigo fue expuesto solo a los olores de animales estresados durante 35 días, desarrolló desesperanza evaluada en la prueba de nado forzado, la cual fue revertida por el antidepresivo tricíclico imipramina. A nivel electrofisiológico se observó un incremento significativo de la actividad multilineal de la amígdala basolateral cuando al testigo-presencial se le re-expuso al olor de la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas

con el que 24 h antes había compartido el estrés, lo que sugiere fuertemente la participación de la experiencia. Y, finalmente el análisis cromatográfico indicó que los niveles de 2-heptanona en orina eran similares a las del grupo choques, pero la concentración de este compuesto volátil se redujo a valores control cuando al testigo-presencial se le administró diazepam (ver tabla 9, pág. 104). Estos resultados indican que el grupo testigo-presencial respondió a la comunicación emocional emitida por su compañero en dos formas distintas. En la situación a corto plazo, el testigo-presencial respondió con ansiedad, la cual fue evaluada a través de la prueba de enterramiento defensivo (ver Fig. 9, pág. 39). Quiere decir entonces, que los mensajeros químicos actuaron posiblemente como sustancias activadoras de centros de alarma localizados en el sistema límbico, probablemente en el núcleo septal lateral y en la amígdala basolateral. Esta activación a su vez promovió la expresión de conductas y cambios fisiológicos que permitieron quizás al sujeto receptor emitir mensajes químicos que alertaran a otros individuos y modificar su comportamiento.

Los olores provenientes de animales sometidos a estrés pueden tener efectos significativos sobre el comportamiento y el sistema inmune de conespecíficos expuestos a dichos olores (Cocke y Thiessen, 1990). Estos olores generalmente han sido referidos como inductores o señales de alarma, los cuales tienen la propiedad de alertar al resto de los animales de la presencia de un daño potencial y promover la dispersión del grupo o el despliegue de comportamientos defensivos (Zalaquett y Thiessen, 1991). Aquellas quimioseñales que tienen la cualidad de ser sustancias de alarma pueden influir en la agresividad (Carr et al., 1970); en el comportamiento reproductivo y la maduración sexual (Vanderbergh, 1994); la jerarquía social y territorial (Rottman y Snowdon, 1972; Jemiolo et al., 1992), la respuesta inmunológica (Cocke y Thiessen, 1990) e incluso promover mecanismos analgésicos endógenos como parte del componente defensivo de los sistemas motivacionales de protección ante eventos aversivos (Fanselow, 1985), mediante procesos de comunicación no-verbales, no-corporales.

Los cambios conductuales y electrofisiológicos observados tanto en el emisor como en el receptor, nos hace suponer que ambos sujetos desplegaron estrategias conductuales diferentes para enfrentar las situaciones adversas a las que fueron sometidos, pero tuvieron como finalidad establecer una comunicación que pudiera ser efectiva para el receptor cuando éste tuviera aun la posibilidad de emitir conductas que lo llevaran a escapar o a enfrentar una situación aversiva a corto plazo, a través del despliegue de ansiedad; sin embargo, si no es posible escapar ante la señal emitida por el emisor y desplegar pautas conductuales de sobrevivencia, es probable que desarrolle amotivación (ver Fig. 14, pág.

67; Fig. 18, pág. 77), es decir, cuando la situación se vuelve incontrolable y el individuo no tiene ninguna opción de desplegar reacciones de huida o evitación, quizás esto conduzca al animal a un abatimiento generalizado del comportamiento y abandono de todo intento de sobrevivencia, cuando percibe que su naturaleza social se vuelve ineficaz (ver Fig. 31). Por tanto, las conductas desplegadas por ambos grupos de animales podrían responder a diferentes estrategias para enfrentar la situación aversiva a la que están siendo expuestos en demanda del significado biológico del estímulo.

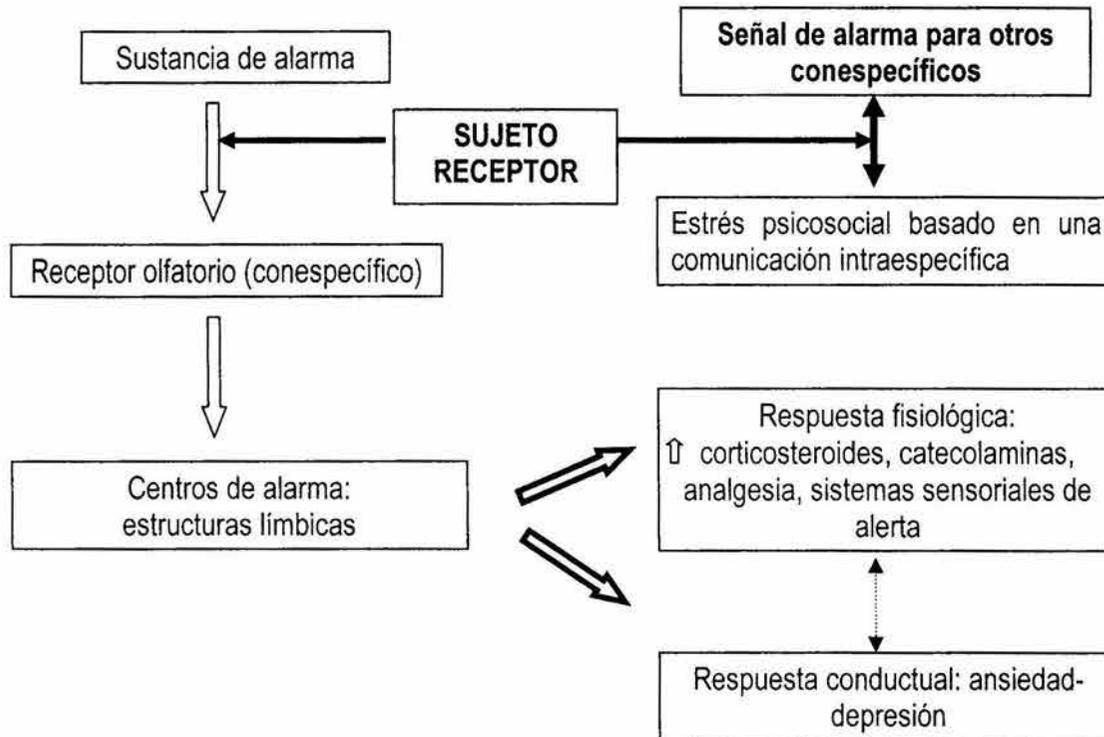


Fig. 31. Modelo de percepción y elaboración de la respuesta del receptor.

8.2. El emisor y la producción de señales químicas

Las ratas que fueron sometidas a una sola sesión de choques eléctricos en las patas no difirieron de los animales control cuando éstos fueron evaluados en pruebas conductuales de actividad locomotriz en campo abierto (ver Fig. 7, pág. 36) y en un modelo de ansiedad, denominado enterramiento defensivo (ver Fig. 9, pág. 39); sin embargo, son capaces de inducir ansiedad a un receptor cuando éste último es expuesto a las vocalizaciones y al olor emanado de un emisor durante la aplicación del estímulo aversivo. Aún no sabemos el por qué el grupo choques sometido a una sola situación de estrés, no desplegó

cambios conductuales sugerentes de ansiedad o desesperanza en los modelos conductuales empleados en este estudio, aunque cabe especular que se encontraba sometido a una situación que, por novedosa, resultaba inesperada, lo que le comprometió a resolver la situación de conflicto de una manera urgente, por lo tanto digamos que sus sistemas motivacionales estarían "ocupados" tratando de integrar la información novedosa. Empero, en la situación en la que el estrés se repitió durante varios días, los animales que integraron el grupo choques mostraron un decremento significativo de la locomoción (ver Fig. 12, pág. 61) aunado a un incremento del número de periodos y el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado (ver Fig. 13, pág. 64; Fig. 14, pág. 67; Fig. 17, pág. 73; Fig. 18, pág. 77), lo cual es sugerente de que desarrollaron desesperanza al enfrentarse a una situación repetitiva y carente de solución. Luego entonces, es posible suponer que el grado en el cual los organismos pueden tener aun control sobre los eventos aversivos a los cuales están siendo expuestos, tiene efectos sobre el organismo. Es decir, en una situación a corto plazo, es probable que los animales del grupo choques aun intenten ejercer algún control de la situación aversiva a la que fueron expuestos. Sin embargo, cuando la situación aversiva se prolonga y el sujeto aprende que no hay solución, lo que los conduce finalmente a la desesperanza.

Por otro lado, se determinó que la orina de un animal estresado por choques eléctricos en las patas es capaz de desencadenar desesperanza en conoespecíficos expuestos a dichos olores y, desde luego, cambios electrofisiológicos concomitantes en estructuras cerebrales relacionadas con aspectos hedónicos y motivacionales de la conducta. Entonces, la presencia de compuestos de naturaleza volátil en la orina de estos animales (ver Fig. 28, pág. 103), los cuales han sido identificados en otras especies como sustancias de alarma, nos sugiere que los animales del grupo choques pudieron haber producido y/o secretado mensajeros químicos que lograran una comunicación eficaz e inmediata para los individuos receptores. En este punto conviene considerar que la primera respuesta que se encontró en el receptor fue ansiedad (ver Fig. 7, pág. 36, Fig. 8, pág. 38; Fig. 9, pág. 39; y Fig. 10, pág. 41), lo cual llevó a los animales del grupo testigo-presencial a incrementar el esfuerzo desplegado en la prueba de nado forzado (ver Fig. 8, pág. 38), es decir la inmovilidad disminuyó a expensas de un aumento del nado, quizás en un intento por aumentar el tiempo destinado a encontrar la solución al problema, en otras palabras, a encontrar la salida del estanque. Desde este punto de vista, la función teleológica de la señal de alarma, sería alertar a los conoespecíficos sobre una situación de peligro y prepararles mediante la inducción de ansiedad a buscar y encontrar soluciones rápidas y eficaces ante el problema que se avecina, aun desconociendo la naturaleza

misma de esa situación. Una especulación que bien merece múltiples y diversas aproximaciones experimentales.

Debido a que las quimioseñales de alarma causan un incremento de los niveles de corticosterona plasmática en animales expuestos (Cocke y Thiessen, 1990), se ha especulado que el origen de las señales de alarma tiene lugar en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. Sin embargo, la adrenalectomía en ratas no modifica la producción o secreción de sustancias de alarma; mientras que la hipofisectomía efectivamente afecta dicha producción y/o secreción (Abel y Bilitzke, 1992), de modo que la hipófisis (Abel, 1994) regula la producción o liberación de quimioseñales de alarma en ratas (Fig. 32).

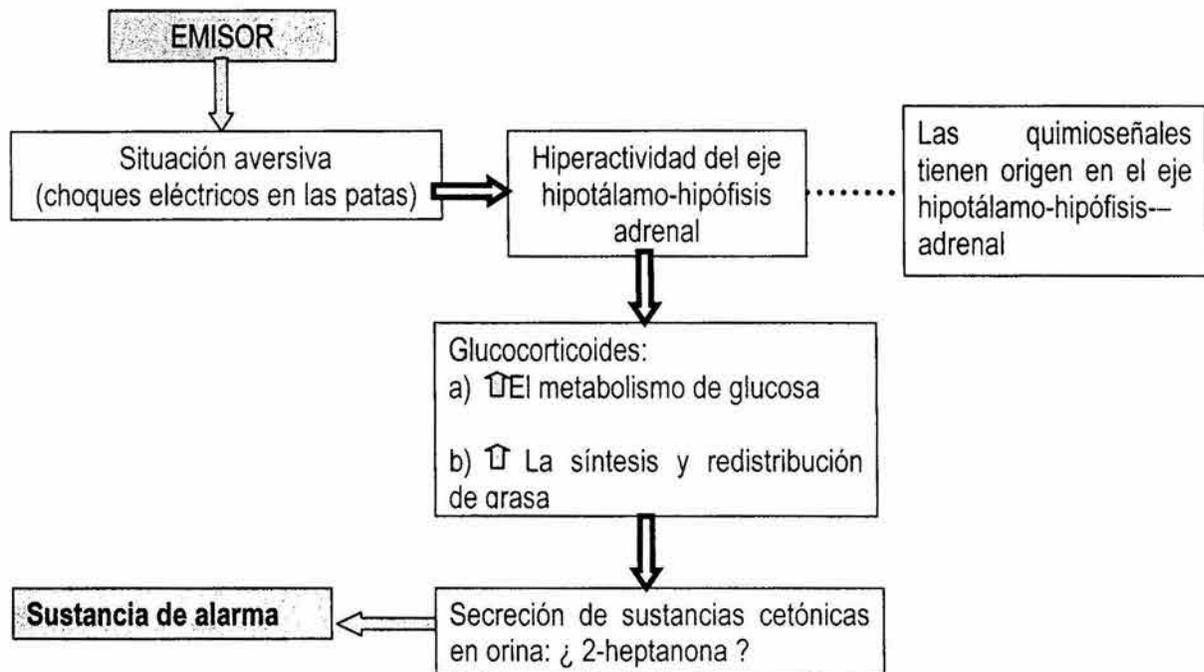


Fig. 32. Esquema de la posible producción y/o liberación de mensajeros químicos.

De acuerdo con nuestros resultados, la sustancia (o una de ellas) responsable de la inducción de ansiedad ante el estrés breve y de desesperanza al prolongar la duración del estrés, fue la 2-heptanona. Se trata de una molécula lineal de siete carbonos con una doble ligadura en la posición del segundo carbono, lo que le confiere la particularidad de ser considerada una acetona. Ahora bien, las acetonas como los aldehídos son moléculas inestables que el organismo forma como un paso catabólico intermedio,

dirigido hacia la degradación-eliminación de otros compuestos. En este caso, la 2-heptanona puede ser considerada como un producto final del metabolismo de ácidos grasos y de carbohidratos. Entonces y considerando que el estrés por choques eléctricos en las patas ocasiona una sobreactivación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Ishikawa et al., 1992) y del sistema nervioso autónomo, es posible que esta activación haya sido la vía a través de la cual el emisor haya producido mensajeros químicos. Esto es, es posible que el estímulo estresor consistente en choques eléctricos en las patas haya promovido la secreción de glucocorticoides al activar las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo, cuyos axones terminan en la eminencia media, en cuya respuesta elaboró y liberó posiblemente el factor liberador de corticotrofina, este péptido fue transportado por el sistema portahipofisiario hacia la adenohipófisis, que a su vez sintetizó y liberó la hormona adrenocorticotrófica. Esta última entró al torrente sanguíneo y estimuló a la corteza adrenal haciendo que segregara glucocorticoides. Los glucocorticoides tienen influencias múltiples sobre el metabolismo de la glucosa, con diversos efectos secundarios. En la mayor parte de los tejidos, estos esteroides inhiben la captación de glucosa, tienden a inhibir los efectos de la insulina y a reducir la afinidad de la unión de la insulina a sus receptores (Baxter, 1986). El efecto neto de estas influencias es una tendencia, provocada por glucocorticoides, hacia la hiperglicemia (Fig. 33). Notablemente, Albone (1984) reportó la presencia de 2-heptanona en la orina del ser humano y en ratas, la cual incrementa significativamente en enfermedades como la diabetes mellitus (Liebich, 1983).

Por otro lado, la activación simpática pudo promover la liberación de hormonas adrenales, las cuales tienen efectos sobre el metabolismo de la glucosa (Carlson, 2001) favoreciendo la hiperglicemia. Asimismo, el incremento de adrenalina, pudo favorecer el desdoblamiento de glucógeno y la liberación de glucosa del hígado (Baxter, 1986), lo cual a su vez promovió la producción de cuerpos cetónicos. Aunque se reconocen principalmente tres cuerpos cetónicos identificados en la orina los cuales derivan principalmente del metabolismo de los ácidos grasos: el ácido acetoacético, el ácido β -hidroxibutírico y la acetona, es posible que la 2-heptanona sea el producto de la descarboxilación del ácido β -ceto-octanoico (Schwende et al., 1984), dado que el ácido octanoico aumenta la producción de glucosa en el hígado e incrementa la producción de cuerpos cetónicos (Bach et al., 1975). Los cuerpos cetónicos se producen en las mitocondrias del hepatocito por oxidación beta de ácidos grasos, y el glucagón es la principal enzima que se encarga de provocar el estado cetógeno en el hígado. Lo hace por medio de reducción de los niveles de malonilcoenzima A, primer sustrato comprometido en la síntesis de ácidos grasos, lo que conduce a aumento notable de la actividad de la carnitina transferasa I. Esta enzima desplaza ácidos

grasos del citosol hacia el espacio intramitocondrial, donde se transforman en cetonas. En consistencia, se ha observado que la incubación de hepatocitos con norepinefrina convierte los ácidos grasos de cadena larga en cuerpos cetónicos. Estos datos sugieren que el estrés asociado a la activación simpática y la descarga de noradrenalina, como se observa en la cetoacidosis diabética, resultaría en una directa activación de cetogénesis en el hígado (Oberhaensli et al., 1985), siendo posiblemente la 2-heptanona un producto de esta síntesis.

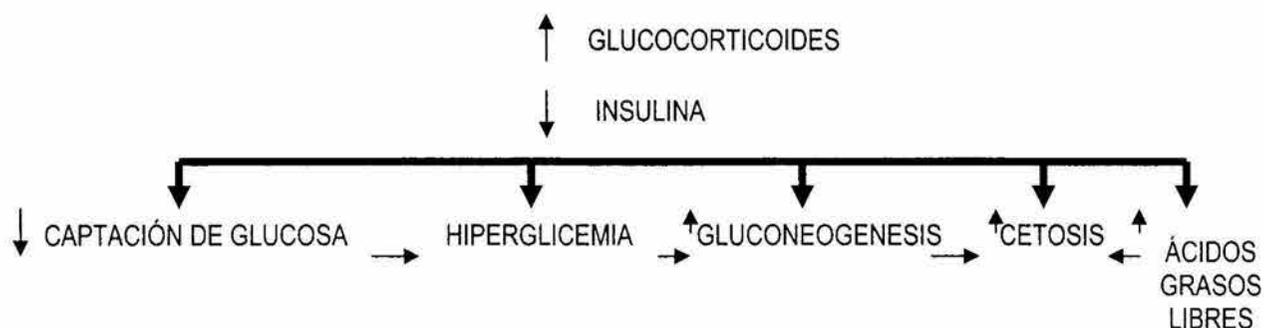


Fig. 33. Posible mecanismo por medio del cual, el emisor pudo producir y/o secretar compuestos cetónicos volátiles en la orina ante el estrés por choques eléctricos en las patas. Influencia de los glucocorticoides sobre el metabolismo de la glucosa, el proceso es idéntico al que ocurre en la diabetes mellitus, con la única diferencia de que aquí participa como disparador el aumento de los niveles circulantes de glucocorticoides, como consecuencia del estrés.

8.3. Síntesis

En nuestro estudio fue posible establecer una comunicación intraespecífica mediada por mensajeros químicos entre un par de ratas. Esta comunicación se estableció de la siguiente manera: requerimos de, a) un emisor, es decir, el sujeto que recibió directamente un estresor consistente en choques eléctricos en las patas. Este emisor produjo un, b) mensaje dirigido a un, c) receptor, sujeto que recibió dicho mensaje a través de un sistema olfativo capaz de diferenciar en un entorno heterogéneo señales relevantes para su supervivencia. Al parecer, el mensaje químico involucrado fue una sustancia cetónica volátil identificada como 2-heptanona. Esta sustancia fue emitida dentro de un, d) contexto en que a corto plazo, al parecer tuvo como finalidad alertar a los individuos receptores de un peligro potencial al generarles ansiedad; pero, a largo plazo provocó desesperanza, ya que el contexto se modificó con la experiencia, es decir, el sujeto receptor no tenía ninguna posibilidad de emitir ninguna estrategia de solución ante dicho mensaje. Finalmente, el, e) código se estableció mediante la participación de los receptores olfatorios que dieron lugar a una respuesta neuronal en estructuras del sistema límbico, como

fue el caso del núcleo septal lateral y de la amígdala basolateral. Todo este patrón de señales hicieron posible el mensaje, teniendo como finalidad promover el alertamiento de los sujetos receptores, quienes a su vez fueron capaces de detectarlo a través de un, f) canal, establecido por un sistema de receptores olfativos activos, lo que en conjunto llevó a desplegar cambios conductuales y electrofisiológicos en respuesta a dicho mensaje.

Así, este enfoque podría ser empleado como un nuevo modelo para aproximarnos al estudio experimental de la ansiedad y la depresión como un proceso continuo, basándose en un estresor natural al que muchas especies de animales se tienen que enfrentar de manera cotidiana. Para ello, es necesario realizar más estudios relacionados con este modelo para determinar cuáles son las bases funcionales que lo subyacen, así como determinar el mecanismo por medio del cual las señales odoríferas podrían estar generando cambios conductuales y electrofisiológicos en estructuras cerebrales relacionadas con la ansiedad y la depresión y por supuesto, determinar dónde y cómo se lleva a cabo la síntesis de los mensajeros químicos, de manera particular, de la 2-heptanona.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abel EL** (1991b). Gradient of alarm substance in the forced swimming test. *Physiol Behav* 49:321-323.
- Abel EL** (1991a). Alarm substance emitted by rats in the forced-swim test is a low volatile pheromone. *Physiol Behav* 50:723-727.
- Abel EL** (1994). The pituitary mediates production or release of an alarm chemosignal in rats. *Horm Behav* 28(2):139-145.
- Abel EL, JH Hannigan** (1992). Effects of chronic forced swimming and exposure to alarm substance: physiological and behavioral consequences. *Physiol Behav* 52:781-785.
- Abel EL, PJ Billitzke** (1990). A possible alarm substance in the forced swimming test. *Physiol Behav*, 48:233-239.
- Abel EL, PJ Billitzke** (1992). Adrenal activity does not mediate alarm substance reaction in the forced swim test. *Psychoneuroendocrinology* 17:255-259.
- Albone ES** (1984). *Mammalian semiochemistry. The investigation of chemical signals between mammals.* Chichester New York: John Wiley & Sons.
- Alonso SJ, MA Catellano, D Afonso, M Rodríguez** (1991). Sex differences in behavioral despair: relationships between behavioral despair and open field activity. *Physiol Behav* 49:69-72.
- American Psychiatric Association** (1994). *Diagnosis and statistical manual of mental disorders.* 4a. ed. Washington, D.C: Rev. American Psychiatric Press.
- Andreolini F, B Jemiolo, M Novotny** (1987). Dynamics of excretion of urinary chemosignals in the house mouse (*Mus musculus*) during the natural estrous cycle. *Experientia* 43:998-1002.
- Anger WK, MK Jordan, DW Lynch** (1979). Effects of inhalation exposures and intraperitoneal injections of methyl n-amyl ketone on multiple fixed-ratio, fixed-interval response rates in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 49:407.
- Angst J** (1995). The epidemiology of depressive disorders. *Eur Neuropsychopharmacol* 5 (suppl.1): 95-98.
- Anisman H, RM Zacharko** (1982). Depression: the predisposing influence of stress. *Behav Brain Sciences* 5:89-137.
- Archer J** (1973). Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Anim Behav* 21:205-235.
- Bach A, T Phan T, P Metais** (1975). Octanoate metabolism in the isolated perfused rat liver. II. Comparison with a long chain fatty acid. *Arch Int Physiol Biochim* 83(1):99-109.
- Baxter JD** (1986). Efectos de esteroides suprarrenales. Glucocorticoides. En Wingarden JB, LH Smith (eds). *Tratato de medicina interna de Cecil*, decimoséptima edición, Vol. II. Madrid: Interamericana, pp. 1455-1457.
- Bernal-Morales B** (1997). Desarrollo de un modelo para el estudio de los efectos neurotóxicos de los disolventes industriales: ensayo con el benceno. Tesis recepcional de Licenciatura, Universidad Veracruzana.
- Borsini F, A Lecci, A Sessarego, R Frassine, A Meli** (1989). Discovery of antidepressant activity by forced swimming test may depend on pre-exposure of rats to a stressful situation. *Psychopharmacology* 97:183-188.

- Borsini F, A Meli** (1988). Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity. *Psychopharmacology* 94:174-160.
- Brain P, D Benton** (1979). The interpretation of physiological correlates of differential housing in laboratory rats. *Life Sci* 24:99-116.
- Bures J** (1976). Electrophysiological correlates of behavior. En Bures J, O Buresova, J Huston (eds). *Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior*. Amsterdam: Elsevier Scientific Company, pp. 219-250.
- Cabanellas G** (1968). *Enciclopedia Jurídica Omeba*. Tomo XXVI. Argentina: Bibliografía Omeba.
- Calderón-Narváez G** (1985). *Depresión. Causas, manifestaciones y tratamiento*. México: Trillas.
- Campeau S, MD Hayward, BT Hoop, JB Rosen, EJ Nestler, M Davis** (1991). Induction of the c-fos proto-oncogene in rat amygdala during unconditioned and conditioned fear. *Brain Res* 565:349-352.
- Caraveo-Anduanga J, E Comenares, G Saldívar** (1999). Estudio clínico-epidemiológico de los trastornos depresivos. *Salud Mental* 22(2):7-17.
- Carlson NR** (2001). *Physiology of behavior*, 7th edition. Massachusetts: Allyn and Bacon, pp. 570-573.
- Carr WJ, RD Martorano, L Krames** (1970). Responses of mice to odors associated with stress. *J Comp Physiol Psychol* 71(2):223-228.
- Cocke R, DD Thiessen** (1990). Alarm odors suppress the immune system. En Macdonald DW, D Müller-Schwartz, SE Natyncauk (eds). *Chemical Signals in Vertebrates*. New York: Oxford University Press, pp. 125-131-
- Contreras CM** (1998). Hacia un modelo teórico encaminado a moderar la acción neurotóxica de las mezclas de disolventes industriales. En Martínez-Gómez M, J Velázquez-Moctezuma (eds). *Bases Neurobiológicas y ecológicas de la conducta*. México: UAT, UAM, UV, UNAM, pp. 491-501.
- Contreras CM, JF Rodríguez-Landa, AG Gutiérrez-García** (2002). Estrés psicosocial: repercusiones neuronales e implicaciones farmacológicas. En J Manzo (ed). *La década del cerebro y la conducta animal*. Neuroetología. México: Universidad Veracruzana, pp. 267-281.
- Contreras CM, JF Rodríguez-Landa, AG Gutiérrez-García, B Bernal-Morales** (2001). The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *J Psychopharmacology* 15(4):231-236.
- Contreras CM, JF Rodríguez-Landa, AG Gutiérrez-García, B Bernal-Morales, M Saavedra** (2003). Estudio experimental de la ansiedad y la depresión. *Ciencia* 54(2): 29-39.
- Contreras CM, L Martínez-Mota, M Saavedra** (1998). Desipramine restricts estral cycle oscillations in swimming. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 22:1121-1128.
- Contreras CM, M Molina, M Saavedra, L Martínez-Mota** (2000). Lateral septal firing rate increase during proestrus-estrus in the rat. *Physiol Behav* 68:279-284.
- Contreras CM, ML Marván, C Márquez-Flores, L Chacón, MA Guzmán-Sáenz, A Barradas, H Lara**. (1990). La plasticidad del sistema nervioso y el mecanismo de acción de las terapias antidepressivas. *Salud Mental* 13 (1): 39-47.
- Contreras CM, V Alcalá-Herrera, ML Marván** (1989). Action on antidepressant on the septal nuclei on the rat. *Physiol Behav* 46 : 793-798.

- Darbio MV** (1973). *Cromatografía de gases II*. España: Alhambra.
- Davis M** (1992). The role of the amygdala in fear-potentiated startle: implication for animal models of anxiety. *Trends Pharmacol Sci* 13(1):35-41.
- de Boer SF**, J Van der Gugtn, JL Slange (1991). Behavioural and hormonal indices of anxiolytic and anxiogenic drug action in the shock prod defensive burying/avoidance paradigm. En Oliver B, Mos J, Slangen JL (Eds). *Animal Models in Psychopharmacology*. Switzerland: Birkhäuser Verlag, pp. 81-96.
- de Souza EB**, GR Van-Loon (1986). Brain serotonin and catecholamine responses to repeated stress in rats. *Brain Res* 367:77-86.
- Detke MJ**, J Jonhson, I Lucki (1997). Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol* 5(2):107-112.
- Detke MJ**, M Rickels, I Lucki (1995) Active Behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)*121:66-72
- Dixon AK** (1998). Ethological strategies for defence in animals and humans: their role in some psychiatric disorders. *Brit J Med Psychol* 71:417-445.
- Dulac C** (1997). Molecular biology of pheromone perception in mammals. *Sem Cell Develop Biol* 8(2):197-205.
- Duman RS**, GR Heninger, EJ Nestler (1997). A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiat* 54: 597-606.
- Espejo EF**, FJ Miñano (1999). Prefrontocortical dopamine depletion induces antidepressant-like effects in rats and alters the profile of desipramine during Porsolt's test. *Neuroscience* 88(2): 609-615.
- Fanselow MS** (1985). Odors released by stressed rats produce opioid analgesia in unstressed rats. *Behav Neurosci* 99(3):589-592.
- Fernández-Guasti A**, L Martínez-Mota, E Estrada-Camarena, CM Contreras, C López-Rubalcava. (1999). Chronic treatment with desipramine induces an estrous cycle-dependent anxiolytic-like action in the burying behavior, but not in the elevated plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav* 63(1):13-20.
- Ferreira AC**, O Picazo (2002). Agresión y frustración: la agresión materna como modelo. En Hernández-González M (ed). *Motivación animal y humana*. México: Manual Moderno, pp. 236.
- Fuchs E**, M Kramer, B Hermes, P Netter, C Hiemke (1996). Psychosocial stress in tree shrews: clomipramine counteracts behavioral and endocrine changes. *Pharmacol Biochem Behav*, 54(1)219-228.
- Gutiérrez-García AG**, CM Contreras (2000). El comportamiento sumiso: una estrategia conductual defensiva en los animales y en el humano. *Psicología de la Salud* 10 (2): 201-213.
- Gutiérrez-García AG**, CM Contreras (2002). Algunos aspectos etológicos de la comunicación química en ratas y ratones de laboratorio. *Rev Biomédica* 13(2):189-209.
- Gutiérrez-García AG**, CM Contreras, J Díaz-Meza (2000). Como actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central. *Salud Mental* 23(2):42-48.
- Gutiérrez-García AG**, CM Contreras, JF Rodríguez-Landa (2003a). Multineuronal activity of lateral septal nucleus decreases simultaneously to immobility in rats forced to swim (en proceso).

- Gutiérrez-García AG**, CM Contreras, JL Díaz-Meza, B Bernal-Morales, JF Rodríguez-Landa, M Saavedra (2003b). Intraaccumbens dopaminergic lesion suppresses the effects of desipramine in the forced swim test but not in neuronal activity of lateral septal nucleus. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 27: 809-818.
- Hatch AM**, GS Wiberg, Z Zawadzka, M Cann, JM Airth, HC Grice (1965). Isolation syndrome in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 7(5):737-45.
- Heinze G** (2003). La ansiedad: cómo se la concibe actualmente. *Ciencia* 54(2): 8-15.
- Henke PG** (1982). The telencephalic limbic system and experimental gastric pathology: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 6:381-390.
- Hinde RA** (1977). Bases biológicas de la conducta social humana. México: Siglo XXI, pp. 259-290.
- Hommer DW**, P Skolnick, SM Paul (1987). The benzodiazepine/GABA receptor complex and anxiety. *Psychopharmacology. The third generation of progress*. Meltzer HY (ed). Raven Press, pp. 977-983.
- Hornbuckle PA**, T Beall (1974). Escape reactions to the blood of selected mammals by rat. *Physiol Behav*. 12:573-576.
- Hughes RN**, JM Pithier (1987). Chronic imipramine effects on exploratory behaviour in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 27(2):359-62.
- Inamura K**, M Kashiwayanagi, K Kurihara. (1999). Regionalization of Fos immunostaining in rat accessory olfactory bulb when the vomeronasal organ was exposed to urine. *Eur J Neuroscience* 11:2254-2260.
- Inoue T**, K Tsuchiya, T Koyama (1994). Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and psychological stress in the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav*, 49(4):911-920.
- Ishikawa M**, CH Hara, S Ohdo, N Ogawa (1992). Plasma corticosterone response of rats with sociopsychological stress in the communication box. *Physiol Behav* 52:475-480.
- Isovich E**, MJ Mjnster, G Flügge, E Fuchs (2000). Chronic psychosocial stress reduces the density of dopamine transporters. *Eur J Neurosci* 12:1071-1078.
- Jemiolo B**, TM Xie, M Novotny (1992). Urine marking in male mice: responses to natural and synthetic chemosignals. *Physiol Behav* 52(3): 521-526.
- Kandel ER**, JH Schwartz, TM Jessell (1997). *Neurociencia y Conducta*. España: Prentice-Hall Hispanoamericana, pp. 667-670.
- Kaneyuki H**, H Yokoo, A Tsuda, M Yoshida, Y Mizuki, M Yamada, M Tanaka (1991). Psychological stress increases dopamine turnover selectively in mesoprefrontal dopamine neurons of rats: reversal by diazepam. *Brain Res* 557:154-161.
- Katz RJ** (1980). Animal model of depression: Pharmacologic sensitivity of hedonic deficit. *Pharmacol Biochem Behav* 16:965-968.
- Kelley AE** (1993). Locomotor activity and exploration. En Sahgal A (Ed). *Behavioural Neuroscience. A practical approach II*. Oxford: Irl Press, pp. 1-21.
- Kendler S** (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *Am J Psychiat* 156:37-841.
- Keverne EB** (1999). The vomeronasal organ. *Science* 286:716-720.

- Kevetter GA**, SS Winans (1981). Connections of the corticomедial amygdala in the golden hamster. I. Efferents of the vomeronasal amygdala. *J Comp Neurol* 197:81-98.
- Kikisiui T**, S Takigami, Y Takeuchi, Y Mori (2001). Alarm pheromone enhances stress-induced hypohertemia in rats. *Physiol Behav* 72:45-50
- King MG**, HP Pfister, EL DiGiusto (1975). Differential preferences for and activation by the odoriferous compartment of a shuttlebox in fear conditioned and naive rats. *Behav Biol* 13: 175-181.
- Koolhaas JM**, SM Korte, SF De Boer, BJ Van Der Vegt, CG Van Reenen, H Hopster, IC De Jong, MAW Ruis, HJ Blokhuis (1999). Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neurosci Biobehav Rev* 23:925-935.
- Krieger J**, B Heinz (1999). Olfactory reception in invertebrates. *Science* 286(5440):720-723.
- Kudryavtseva NN**, IV Bakshtanovskaya, LA Koryakina (1991). Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol Biochem Behav* 38: 315-320.
- Lambert JJ**, D Belleli, C Hill-Venning, JA Paters (1995). Neurosteroids and GABAA receptor function. *TIPS* 16:85-303.
- LeDoux JE** (1987). Emotion. En Plum F (ed). *Handbook of Physiology: Nervous system V*. Washington, D.C: American Physiological Society.
- LeDoux JE**, J Iwata, R Cicchetti, DJ Reis (1988) Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *J Neurosci* 8(7):2517-2529.
- Lee EH**, MJ Tsai, CY Chai (1986). Stress selectively influences center region activity of mice in an open field. *Physiol Behav* 37:659-661.
- Liebich HM** (1983). Gas chromatographic-mass spectrometric determination of total 4-heptanone, a new marker in diabetes mellitus. *J Chromatogr* 273:67.
- Liman ER**, DP Corey, C Dulac (1999). TRP2: A candidate transduction channel for mammalian pheromone sensory signalling. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:5791-5796.
- Luiten PG**, JM Koolhaas, SJ Koopmans (1985). The Corti-medial amygdala in the central nervous system organization of agonistic behavior. *Brain Res* 332:283-297.
- Lynch DW**, TR Lewis, WJ Moorman, HB Plotnick, RL Sachuler, AW Smallwood, C Kommineni (1981). Inhalation toxicity of methyl n-amyl ketone (2-heptanone) in rats and monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol* 58: 341-352.
- MaCkay-Sim A** (1981). The sources of odors from stressed rats. *Physiol Behav*, 27:511-513.
- MaCkay-Sim A** (1980). Discrimination of odors from stressed rats by non-stressed rats. *Physiol Behav*, 24:699-704.
- Majewska MD** (1992). Neurosteroids. Endogenous bimodal modulators on the GABA_A receptor: mechanism of action and physiological significance. *Prog Neurobiol* 38:379-395.
- Martínez-Mota L**, CM Contreras, M Saavedra (1999). Progesterone reduces immobility in rats forced to swim. *Arch Med Res* 30:286-289.
- Martínez-Mota L**, E Estrada-Camarena, C López-Rubalcava, CM Contreras, A Fernández-Guasti (2000). Interaction of desipramine with steroid hormones on experimental anxiety. *Psychoneuroendocrinology* 25:109-120.

- Miczek KA**, JT Winslow (1987). Psychopharmacological research on aggressive behavior. En Greenshaw AJ, CT Dourish (eds). *Experimental Psychopharmacology*. Clifton, New Jersey: Humana Press, pp. 27-113.
- Miczek KA**, W Tornatzky, J Vivian (1991). Ethology and neuropharmacology: rodent ultrasounds. En Oliver B, J Mos, JL Slangen (eds). *Animal Models in Psychopharmacology*. Boston: Birkhäuser Verlag, pp: 409-427.
- Novotny M**, B Jemiolo, S Harvey (1990). Chemistry of rodent pheromones: molecular insights into chemical signaling in mammals. En MacDonald DW, P Müller-Schwarze, SE Natynczuk (eds). *Chemical signals in vertebrates*. Oxford: Oxford University Press, Vol. 5:1-22.
- Novotny M**, FJ Schewende, D Wiesler, JW Jorgenson, M Carmack (1984). Identification of a testosterone-dependent unique volatile constituent of male mouse urine: 7 exo-etil-5-metil-6,8-dioxabicyclo (3.2.1(-3-octano). *Experientia* 40:217-220.
- Novotny M**, S Harvey, B Jemiolo, J Alberts (1985). Synthetic pheromones that promote inter-male aggression in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 82(7):2059-2061.
- Nyska A**, JR Leininger, RR Maronpot, JK Haseman, JR Hailey (1998). Effect of individual versus group caging on the incidence of pituitary and Leydig cell tumors in F344 rats: proposed mechanism. *Med Hypotheses* 50(6):525-9.
- Oberhaensli RD**, R Schwendimann, U Keller (1985). Effect of norepinephrine on ketogenesis, fatty acid oxidation, and esterification in isolated rat hepatocytes. *Diabetes*. 1985 Aug;34(8):774-9.
- Ogawa N**, K Kuwahara (1966). Psychophysiology of emotion-communication of emotion. *Jpn J Psychosom Med* 6:352-357.
- Overmier JB** (2002). On learned Helplessness. *Int Physiol Behav Sci* 37 (1):4-8.
- Pascoe JP**, BS Kapp (1985). Electrophysiological characteristics of amygdaloid central nucleus neurons during Pavlovian fear conditioning in the rabbit. *Behav Brain Res* 16:117-133.
- Paxinos G**, CH Watson (1982). *The rat Brain. In stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York.
- Picazo O** (1996). Las hormonas y la ansiedad. *Investigación Hoy* 72:8-13.
- Picazo O**, A Fernández-Guasti (1993). Changes in experimental anxiety along pregnancy and lactation. *Physiol Behav*, 54:295-299, 1993.
- Picazo O**, C López-Rubalcava, A Fernández-Guasti (1995). Anxiolytic effect of the 5-HT_{1A} compounds 8-hydroxy-2(di-n-propylamino) tetralin and ipsapirone in the social interacion paradigm: evidence of a presynaptic action. *Brain Res Bull* 37:169-175.
- Picazo O**, G Roldán (1996). Modelos animales utilizados para el estudio de la ansiedad y el desarrollo de fármacos ansiolíticos. *Acta Médica* 31(122):79-86.
- Pijlman FT**, JM van Ree (2002). Physical but not emotional stress induces a delay in behavioural coping responses in rats. *Behav Brain Res*. 36(2):365-73.
- Pinel JP** (2001). *Biopsicología*. Madrid: Printice-Hall, pp. 90-95, 136-138.
- Pinel JP**, D Treit (1978). Burying as a defensive response in rats. *J Comp Physiol Psychol* 92:708-712.
- Platt JE**, EA Stone (1982). Chonic restraint stress elects a positive antidepressant response on the forced-swim test *Eur J Pharmacol* 82:179-181

- Plázquez A**, E Tamborska, M Hauptmann, A Bidzinski, W Kostowski (1988). Brain neurotransmitter systems mediating behavioral deficits produced by inescapable shock treatment in rats. *Brain Res* 447:122-132.
- Porsolt RD**, A Lenégre, RA McArthur (1991). Pharmacological models of depression. En B Oliver, J Mos, JL Slangen (eds.) *Animal models in Psychopharmacology. Advances in Pharmacological Sciences.* Germany: Birkhäuser Verlag Basel, pp. 137-159.
- Porsolt RD**, ML Pichon, M Jalfre (1977). Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature* 266: 730-732.
- Prado-Alcalá R**, GL Quirarte (2002). Algunos aspectos de la motivación relacionados con la memoria. En Hernández-González M (ed). *Motivación animal y humana.* México: Manual Moderno, pp. 236.
- Purves D**, GJ Augustine, D Fitzpatrick, LC Katz, AS LaMantia, JO McNamara (1997). *Neuroscience.* Massachusetts: Sinauer Associates, 263-273.
- Regnier FE**, JH Law (1968). Insect. Pheromones. *J Lipid Res* 9:541-551.
- Richardson JS** (1991). The olfactory bulbectomized rat as a model of major depressive disorder. En Alan Boulton, Glen Baker y Mathew Martin-Iverson (eds.). *Neuromethods. Animal models in psychiatry, II.* Clifton, New Jersey: Humana Press, pp. 61-79.
- Richardson R** (2000). Shock sensitization of startle: learned or unlearned fear? *Behav Brain Res* 110: 109-117.
- Rosenzweig MR**, Leiman AL (1992). *Psicología fisiológica.* Madrid: McGraw Hill, pp. 301-315.
- Rottman SJ**, CH Snowdon (1972). Demonstration and analysis of an alarm pheromone in mice. *J Comp Physiol Psychol* 81(3):483-490.
- Schwende FJ**, D Wiesler, M Novotny (1984). Volatile compounds associated with estrus in mouse urine: potential pheromones. *Experientia* 40: 213-215.
- Seligman ME** (1975). *Helplessness on development, depression and death.* New York: Freeman and Company.
- Seligman ME**, SF Maier (1967). Failure to escape traumatic shock. *J Exp Psychol* 122: 1-9.
- Sharp JL**, TG Zammit, TA Azar, DM Lawson (2002). Stress-like responses to common procedures in male rats housed alone or with other rats. *Contemp Top Lab Anim Sci* 41(4):8-14.
- Sheehan T**, M Numan (2000). The septal region and social behavior. En R Numan (ed). *The behavioral neuroscience of the septal region.* New York: Springer, pp. 175-209.
- Shibley MT**, JH McLean, M Ennis (1995). Olfactory System. En: G Paxinos (ed). *The rat nervous system, United States of American: Academic Press,* pp. 899-926.
- Sol-Tlachi CM** (2000). *Gramática y redacción para universitarios.* México: Universidad Veracruzana, pp. 7-9.
- Sture L**, R Chermat, B Thierry, P Simon (1985). The tail suspension test: A new method for screening antidepressant in mice. *Psychopharmacology* 85: 367-370.
- Thomas E**, E Yadin, CE Strickland (1991). Septal unit activity during classical conditioning: a regional comparison. *Brain Res* 547: 303-308.
- Thorpe WH** (1974). *Naturaleza animal y naturaleza humana.* Madrid: Alianza Editorial.

- Todrank J, H Giora, RE Johnston** (1999). Social interaction is necessary for discrimination between and memory for odours of close relatives in golden hamsters. *Ethology* 105:771-782.
- Treit D** (1985). Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neurosci Behav Rev* 9:203-222.
- Treit D, C Pesold, S Rotzinger** (1993). Dissociating the anti-fear effects of septal and amygdaloid lesions using two pharmacologically validated models of rat anxiety. *Behav Neurosci* 107: 770-785.
- Treit D, JPJ Pinel, HC Fibiger** (1982). The inhibitory effect of diazepam on conditioned defensive burying is reversed by picrotoxin. *Pharmacol Biochem Behav* 17 (2): 359-361.
- Uriarte V** (1992). *Psicopatología básica*. México: Sianex, pp. 111-119.
- Valzelli L** (1973). The "isolation syndrome" in mice. *Psychopharmacology* 31(4):305-20.
- van Dijken HH, J Mos, JA Van der Heyden, FJ Tilders** (1992). Inescapable footshocks induce progressive and long-lasting behavioural changes in male rats. *Physiol Behav* 51:787-794.
- van Dijken HH, JA Van der Heyden, J Mos, FJ Tilders** (1991). Long-lasting behavioural changes after a single footshock stress session. A model of depression? En: B Oliver, J Mos, JL Slangen (eds). *Animal Models in Psychopharmacology*. Boston: Birkhäuser Verlag, pp: 231-236.
- Venderbergh JG** (1994). Pheromones and mammalian reproduction. En Knobil E, JD Neil (eds). *The Physiology and Reproduction*. 2ed. New York: Raven Press, pp. 343-356.
- Verdejo-Vivas G** (1978). *Las Feromonas*. México: Almaria.
- Weiss JM** (1971). Effects of coping behavior with and without a feedback signal conditions on stress pathology in rats. *J Comp Physiol Psychol* 77:1-13.
- Wieland S, I Lucki** (1990). Antidepressant-like activity of 5-HT 1A agonist measured with the forced swim test. *Psychopharmacology* 101:497-504.
- Wilner P** (1994). Animal models of depression. En: Den Boer JA, JM Sitsen (Eds). *Handbook of depression and anxiety. A biological approach*. New York: Marcel Dekker, Inc, pp 291-316
- Yadin E, E Thomas** (1996). Stimulation of lateral septum attenuates immobilization-induced stress ulcers. *Physiol Behav* 59(4-5):883-886.
- Zacharko RM, H Anisman** (1991). Stressor-provoked alterations of intracranial self-stimulation in the mesocorticolimbic system: an animal model of depression. En: P Wilner, J Scheel-Kröger (eds). *The Mesolimbic Dopamine System from motivation to action*. United States American: John Wiley, pp. 411-442.
- Zalaquett C, D Thiessen** (1991). The effects of odors from stressed mice on conspecific behavior. *Physiol Behav* 50:221-227.

APÉNDICES

APÉNDICE A

Contreras CM, M Saavedra, JF Rodríguez-Landa, B Bernal-Morales, **AG Gutiérrez-García** (2002).
Neuroquímica de la emoción y la motivación. En: Hernández-González M (ed), Motivación
Animal y Humana. México: Universidad de Guadalajara y El Manual Moderno, Noviembre,
2000, pp: 39-64. ISBN 968-426-971-4.

Motivación animal y humana

Marisela Hernández González



Manual Moderno®

Nos interesa su opinión, comuníquese con nosotros:



Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.,
Av. Sonora núm. 206, Col. Hipódromo,
Deleg. Cuauhtémoc, 06100 México, D.F.



(52-55)52-65-11-62



(52-55)52-65-11-00



info@manualmoderno.com

Motivación animal y humana

D.R. © 2002 por Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V.
ISBN 968-426-971-4

Miembro de la Cámara Nacional
de la Industria Editorial Mexicana. Reg. núm. 39

En coedición con:
Instituto de Neurociencias,
Universidad de Guadalajara,
ISBN 970-27-0148-1
Av. Juárez núm. 95,
Sector Hidalgo,
44100 Guadalajara, Jalisco

Facultad de Psicología,
Universidad Nacional Autónoma de México
ISBN 968-36-9924-3
Torre de Rectoría, 9º piso,
Ciudad Universitaria, Coyoacán
04510 México, D.F.

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida por otro medio —electrónico, mecánico, fotocopioador, registrador, etcétera— sin permiso previo por escrito de la Editorial.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission in writing from the Publisher.



Manual Moderno®

es marca registrada de
Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.

Hernández González, Marisela
Motivación animal y humana / Marisela Hernández
González -- México : Editorial El Manual Moderno :
Universidad de Guadalajara. Instituto de Neurociencias : UNAM,
Facultad de Psicología, 2002
xx, 434 p. : il. : 25 cm.
Incluye índice
968-426-971-4 (Editorial El Manual Moderno)
970-27-0148-1 (Universidad de Guadalajara)
968-36-9924-3 (UNAM, Facultad de Psicología)

1. Neurofisiología. 2. Neurobiología. 3. Neuroquímica. 4.
Motivación (Psicología). 5. Motivación en animales. I. Universidad
de Guadalajara. Instituto de Neurociencias. II. Universidad Nacional
Autónoma de México. Facultad de Psicología. II. t.

612.8 HER.m.

Biblioteca Nacional de México

Estilo editorial:
Manuel Bernal Pérez
Diseño y formación de páginas:
Rocío Pérez Morales
Índice:
Cecilia Llanos Monsalvo
Diseño de portada:
Arturo Delgado Fuentes

Neuroquímica de la motivación y la emoción

Dr. Carlos M. Contreras,
Dra. Margarita Saavedra Vélez,
M. en C. Juan Francisco Rodríguez Landa,
M. en C. Blandina Bernal Morales
M. en C. Ana G. Gutiérrez García*

Capítulo 3

INTRODUCCIÓN

El estudio de las causas de la emoción y la motivación ha variado a lo largo de la historia y evolucionado gradualmente. En un inicio y durante milenios las causas íntimas de la conducta se atribuyeron a factores ajenos al propio ser humano. Así, el comportamiento era atribuido a dioses, magia y encantamiento, en pautas del pensar que han acompañado al humano de forma ineludible. En paralelo a esos mitos y creencias nace la idea de que el propio ser responde a cambios que se originan dentro de cada individuo. Por ejemplo, el uso de las sustancias psicotrópicas indefectiblemente se vinculó con una serie de rituales donde la magia estaba implicada en relación directa con el grado de intoxicación del conductor del evento, es decir, el brujo, chamán, mago o cualquier otro nombre que recibiera ese curioso personaje.

Aunque no existen fuentes que permitan comprobar de manera inequívoca lo dicho, es factible asumir que en esas civilizaciones primitivas los insumos podrían ser clasificados como nutritivos, venenosos o mágicos. Algunos reportes mencionan que los griegos hace poco más de 2000 años acudían a las Pitonisas, quienes realizaban el oráculo o pronóstico de vida bajo los efectos de ciertos vapores que probablemente contenían óxido nitroso y que emanaban del

* Durante el desarrollo de este trabajo, J. F. Rodríguez-Landa, B. Bernal Morales y A. G. Gutiérrez García recibieron Becas para Estudios de Posgrado por parte de CONACYT, México (registros 124885, 124657, 150023, respectivamente), así como de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-UNAM).

lugar donde vivían. En el siglo XIX, éste fue el primer anestésico general identificado, conocido como “gas hilarante”, debido a que al inicio produce un estado de euforia.

El concepto de locura ha evolucionado con el tiempo, pasando por concepciones mágicas e incluso místicas, como es el bello concepto de Erasmo de Rotterdam. Sin embargo, en estos días la locura es considerada como un trastorno al que se le denomina “estado psicótico”, el cual está compuesto por un conglomerado de padecimientos. Quienes padecen alguna forma de estos padecimientos han perdido el control de sus acciones y de su percepción, y a menudo se caracterizan por agitación extrema. Para su tratamiento se han realizado intentos farmacológicos desde tiempos inmemoriales; por ejemplo, en la Grecia antigua se mencionó la existencia de Melampo, una suerte de hechicero que usaba el eléboro macho para sus curaciones, incluso se menciona que Heracles fue curado de su locura con este medio. Estas propiedades se han verificado al menos parcialmente, pero su uso no es recomendado debido a los efectos dañinos al corazón que tienen sus componentes químicos, como la veratrina.

De manera similar, Hipócrates recomendaba el uso de la mandrágora, en la cual se ha identificado un contenido elevado de atropina y escopolamina. Estas dos sustancias poseen propiedades anticolinérgicas y, por tanto, son consideradas como sedantes débiles; sin embargo, a grandes dosis pueden ser alucinógenas, como ocurre con algunas plantas del género *Datura* —tal es el caso del popular “toloache”—. En el *Ayur Veda*, libro sagrado de los hindúes, se habla de una planta llamada “sarpaghandá” de la que se decía era capaz de curar la epilepsia, pero también la locura; en el siglo XVI Leonhard Rawolf la llevó a Europa y pronto se le rebautizó como *Rauwolfia serpentina* la cual, a partir del siglo XX, recibió toda la atención médica, primero por parte de los hindúes y luego, por todo el mundo, para llegar a la síntesis de su compuesto activo, la reserpina, misma que se utilizó durante muchos años contra la hipertensión y con notables propiedades tranquilizantes que la hacían apropiada para el tratamiento de las llamadas psicosis agitadas.

En fin, lo que se intenta destacar aquí es que desde hace siglos el ser humano experimentó que la ingesta de ciertas sustancias afectaba la función de su cerebro y, en consecuencia, la percepción de su entorno, su estado de ánimo y su vida misma.

Mediante ensayos de administración de ciertos productos naturales ha sido posible mejorar la calidad de vida en aquellos individuos que presentan alteraciones que involucran aspectos emocionales y motivacionales de la conducta. Posteriormente se pudo llegar al proceso de síntesis de algunas de esas sustancias y en el caso más avanzado ha sido factible sintetizar nuevos compuestos, todos ellos con acciones contundentes sobre la emoción y la motivación. Conviene mencionar que del estudio de las acciones de estos compuestos, denominados psicofármacos, es que se han podido identificar algunos sustratos anatomofuncionales implicados en la expresión y regulación de nuestras emociones y motivaciones.

Dentro de la primera mitad del siglo XX, Otto Loewi realizó un experimento que transformó el concepto de las neurociencias. Para ese tiempo se conocía bien que las neuronas manejan información de tipo eléctrico y se comunican entre sí a través de la sinapsis, un concepto hasta entonces anatómico que se refería a un sitio de contacto entre neuronas. El gran avance obtenido por este autor consistió en que además de la presencia de eventos eléctricos descubrió que también participan sustancias —llamadas neurotransmisores— encargadas de transmitir la información en la sinapsis, modificando la función de la neurona que recibe el mensaje químico. Expresado de manera muy simple, ciertos eventos eléctricos en la porción terminal de la neurona presináptica conducen a la liberación del neurotransmisor, el cual modifica la permeabilidad de la membrana de la neurona posináptica mediante estructuras proteicas llamadas receptores.

Ahora bien, los neurotransmisores son sustancias que se identifican con una nomenclatura química basada en la definición de su naturaleza genérica, como sería el caso de las catecolaminas (aminas que tienen un grupo químico catecol) y la acetilcolina; además de aminoácidos con funciones de neurotransmisor como el aspartato y el glutamato. Actualmente se conoce una larga lista de sustancias con posibilidades de ser consideradas neurotransmisores, neuromoduladores o ambos. Como contraparte, se han identificado varias docenas de receptores que tienen la capacidad de reconocer e interactuar con los neurotransmisores.

En este capítulo se intentará resumir las acciones que se han establecido para algunos de estos neurotransmisores, sus receptores, y su relación con la emoción y la motivación.

CATECOLAMINAS

Algunos hallazgos en el quehacer científico son resultado de la serendipia, sin embargo, esto no implica que la aparición de los mismos sea debida al azar. Se trata de verdaderas proezas de observación así como de capacidad de abstracción y de síntesis. Por ejemplo, la iproniazida es un compuesto eficaz contra el agente causal de la tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) que, además, tiene la capacidad de mejorar el estado de ánimo de estos enfermos. Hacia 1957, Crane, Lommer, Saunders y Kline la ensayaron como antidepresivo con magníficos resultados y pronto se supo que sus acciones se debían a la inhibición de la enzima monoaminoxidasa (MAO), la cual degrada a las aminas biógenas, principalmente noradrenalina y serotonina. De este modo nació todo un grupo de fármacos con potencia antidepresiva, los que recibieron el nombre de inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO). El mismo año, en Suiza, Khun intentaba sintetizar sustancias con potencia antipsicótica que además pudiesen tener acciones antihistamínicas, con lo que produjo las dibenzodiazepinas, las cuales resultaron poseer acciones antidepresivas y, por su estructura molecular, recibieron la denominación de antidepresivos tricíclicos.

Como se verá a continuación, las catecolaminas son sustancias con una amplia variedad de acciones sobre el organismo y la conducta. En el contexto de la motivación, por ejemplo, la noradrenalina y sus receptores son uno de los primeros sitios sobre los que actúan los antidepresivos; en tanto que la dopamina se relaciona con fenómenos reguladores de la secreción de hormonas, con el control fino del movimiento y, en particular, con el hedonismo —este último, entendido como la búsqueda de placer.

Las catecolaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina) son sustancias producidas en el cerebro a partir de un mismo aminoácido, la L-tirosina, el cual es obtenido de los alimentos y debe atravesar la barrera hematoencefálica para ser transportado hacia el cerebro hasta llegar a los cuerpos neuronales, en los cuales será biotransformado enzimáticamente. En la ruta anabólica de las catecolaminas, la dopamina es el primer neurotransmisor sintetizado, lo que ocurre posteriormente con la noradrenalina y la adrenalina (figura 3-1).

Las catecolaminas son compuestos formados por un núcleo catecol (un anillo de benceno con dos hidroxilos) y una cadena de etilamina o alguno de sus derivados. Estas sustancias actúan como mensajeros químicos en el sistema nervioso, la dopamina y la noradrenalina ejercen sus acciones a nivel central, mientras que la adrenalina ejerce sus efectos particularmente a nivel periférico. La dopamina y la noradrenalina participan en diversas funciones, como la regulación neuroendocrina, la actividad motora, la afectividad, la ingesta de agua y alimento, así como en la adicción a drogas psicoactivas. Es por ello que estos dos

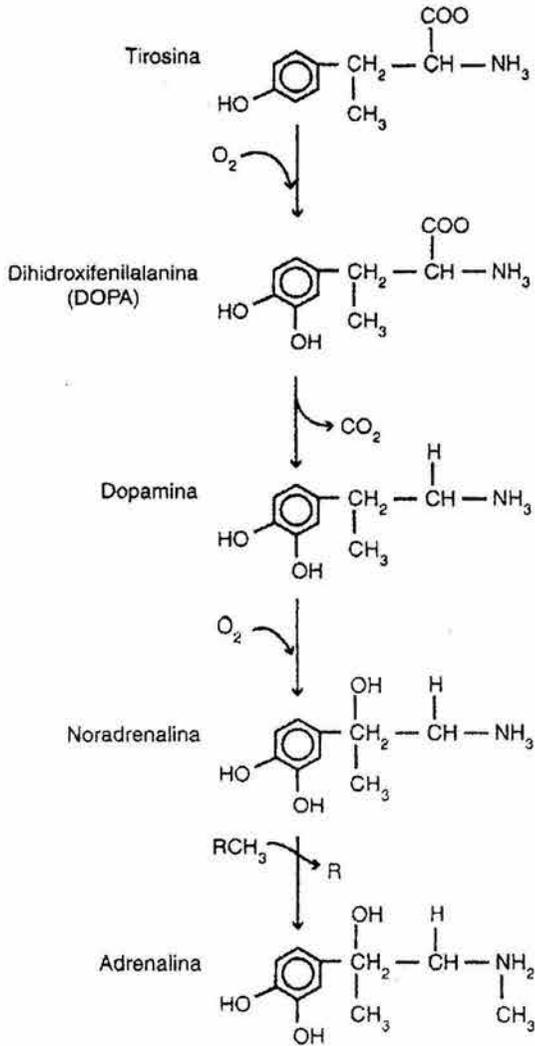


Figura 3-1. Vía sintética de las catecolaminas. Las catecolaminas se sintetizan a partir de la tirosina la cual, por medio de la enzima tirosina hidroxilasa, es convertida en dihidroxifenilalanina (DOPA), misma que, mediante la DOPA descarboxilasa, pasa a ser dopamina. La dopamina es convertida en noradrenalina por medio de la enzima dopamina β -hidroxilasa y ésta, finalmente, llega a convertirse en adrenalina por medio de la feniletanolamina *N*-metil transferasa.

neurotransmisores han sido implicados de manera importante en la regulación y la expresión de algunos aspectos de la conducta motivada.

DOPAMINA

Hasta hace poco tiempo, se consideraba que la dopamina era sólo un producto intermedio en la síntesis de las catecolaminas. Sin embargo, a partir de la observación de que la distribución cerebral de la dopamina y de la noradrenalina es diferente, y que la primera es mucho más abundante que la segunda, se les definió como dos neurotransmisores distintos. Ahora, la dopamina es concebida como uno de los neurotransmisores catecolaminérgicos más importantes del sistema nervioso central (SNC) y se le relaciona con la regulación de diversas funciones motoras, neuroendocrinas, motivacionales, afectivas, así como con el consumo de drogas altamente adictivas como la cocaína, las anfetaminas y otros psicoes-

estimulantes. El refinamiento de las técnicas inmunohistoquímicas, como la inmunofluorescencia, ha permitido identificar los sitios de síntesis de dopamina, así como de las estructuras que la reciben; esto ha hecho posible distinguir las vías dopaminérgicas cerebrales.

Vías dopaminérgicas

Las neuronas dopaminérgicas se distribuyen en tres sistemas con propiedades anatómicas y funcionales diferentes (figura 3-2): a) el nigroestriado se origina en la sustancia negra (grupo celular A9), envía proyecciones hacia el cuerpo estriado y está involucrado en funciones motoras extrapiramidales, b) el mesolímbico y el mesocortical, se originan en el área tegmental ventral (grupo celular A10) y proyectan fibras hacia estructuras del cerebro anterior como la corteza cerebral, el tubérculo olfatorio, el septum y el núcleo *accumbens*. Este sistema ha sido involucrado principalmente con funciones cognitivas, con la adicción a drogas psicoactivas y con la motivación, y c) el tuberoinfundibular que se origina en el hipotálamo (núcleo arqueado y paraventricular) y proyecta al lóbulo intermedio de la hipófisis y a la eminencia media; en tanto, participa en la regulación neuroendocrina.

Receptores a dopamina

Se han identificado dos grandes familias de receptores para la dopamina: los D1, formada por los subtipos D₁ y D₅; y los de tipo D2, a la que pertenecen los subtipos D_{2s} (D₂ brazo

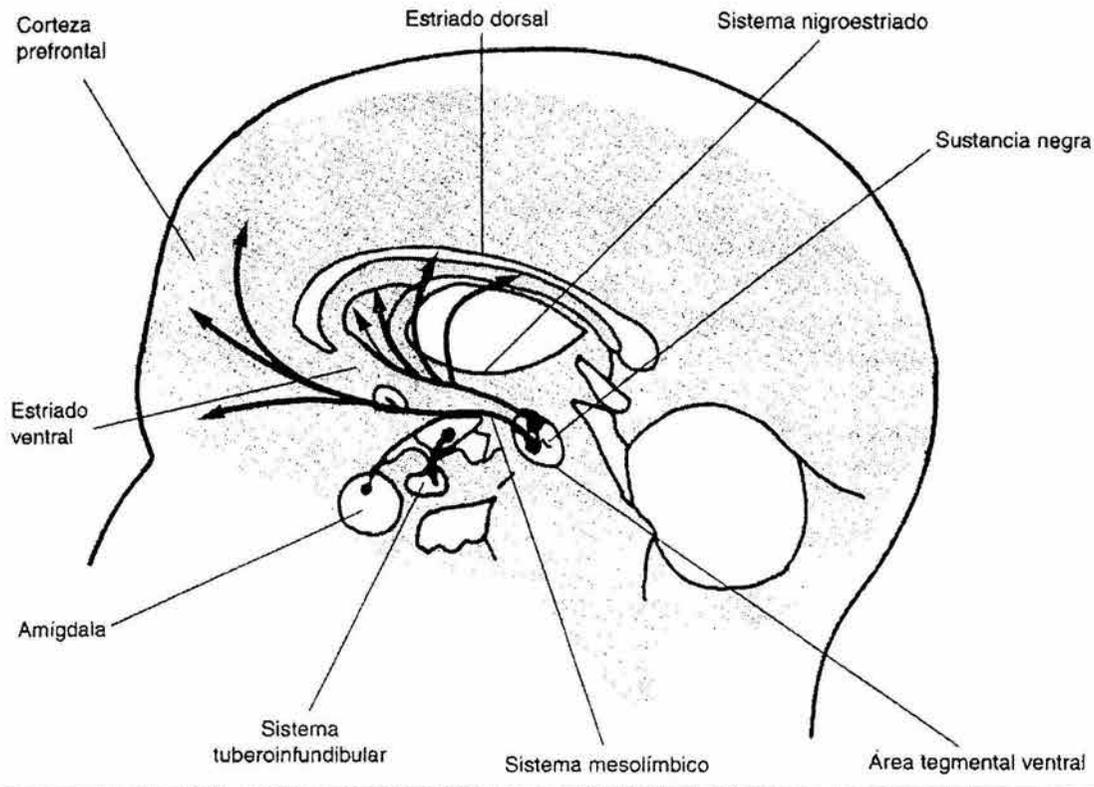


Figura 3-2. Vías dopaminérgicas. Se muestran tres de las principales vías dopaminérgicas y sus proyecciones hacia algunas estructuras cerebrales involucradas en la emoción y en la motivación.

corto), D_{2L} (D₂ brazo largo), D₃ y D₄. Cada uno de estos receptores se encuentra distribuido de manera diferencial en diversas estructuras cerebrales y posee características propias que le dan una función específica (cuadro 3-1).

Implicación de la dopamina en la motivación y la emoción

Con base en estudios neurofisiológicos, neuroquímicos y conductuales, se postula que algunas de las estructuras que integran al sistema mesolímbico están directamente involucradas en la regulación de la conducta motivada; así, se ha propuesto que el núcleo *accumbens* podría funcionar como un centro integrador de la motivación, debido a que se le considera como una interfase entre estructuras límbicas (base anatomofuncional de las emociones) y estructuras que conforman a los ganglios basales, los cuales participan en el control y modulación del movimiento.

De esta manera, se integraría tanto la información sensorial exteroceptiva como la propioceptiva relevantes para las manifestaciones de la conducta motivada establecida en estructuras del cerebro anterior. Los datos antes señalados explicarían algunos de los mecanismos neuronales involucrados en la transición de los aspectos motivacionales a los aspectos consumatorios de la conducta, puesto que todo componente motivado implica necesariamente un acto motor, en el que el sistema dopaminérgico desempeña una función importante.

Al parecer, el sistema mesolímbico está implicado en el inicio, la integración sensorio-motora y la ejecución de las conductas dirigidas a sucesos biológicamente significativos, como la ingesta de alimento, el beber agua y la conducta sexual, así como en la ejecución de tareas relacionadas con la obtención de reforzadores positivos. Lo anterior hace suponer que este sistema modula los componentes motores de las conductas dirigidas hacia una meta, es decir, las conductas motivadas. En este sentido, la activación de esta vía relacionada con la recompensa es un detonante esencial para la motivación, un incentivo para aprender y repetir la conducta adaptativa gracias al llamado reforzamiento.

Así, por ejemplo, en el paradigma de autoadministración de fármacos en el que se utilizan como reforzadores drogas altamente adictivas como la heroína, la morfina, la cocaína y las anfetaminas, los animales presionan palancas a tasas elevadas para recibir la droga. Todas estas sustancias tienen en común activar al sistema mesolímbico e incrementar las concentraciones extracelulares de dopamina en el núcleo *accumbens*, de manera semejante a lo que sucede durante la autoestimulación intracraneal de áreas identificadas con la recompensa, como es el caso del área tegmental ventral. Este hecho se ha relacionado con dos aspectos de la conducta: 1) las propiedades gratificantes de ciertos estímulos y 2) la respuesta motora que subyace a la motivación que lleva a preferir y aproximarse a esa clase de fuentes de estimulación. Entonces, las drogas que estimulan la transmisión dopaminérgica —como la cocaína, la heroína y las anfetaminas— pudieran caracterizarse por la interacción que llevan a cabo entre estos dos aspectos.

Al igual que en la autoestimulación intracraneal o en la autoadministración de drogas adictivas, cuando se les permite a las ratas privadas de alimento el acceso a este recurso, se incrementan las concentraciones extracelulares de dopamina en el núcleo *accumbens*; un efecto que no sucede en los animales con libre acceso al alimento. Este aumento de la dopamina extracelular también se ha detectado durante la fase consumatoria de la actividad sexual de la rata; lo que pone en evidencia la relación entre la activación dopaminérgica y un posible estado placentero asociado con la conducta motivada.

En contraparte, cuando se administran antagonistas dopaminérgicos (como el sulpiride) a los animales, disminuye la tasa de autoestimulación intracraneal o de otro reforzador

Cuadro 3-1. Clasificación de los receptores a dopamina con algunas de sus características fisiológicas y su función

	Familia D ₁			Familia D ₂			
	D ₁	D ₅	D ₂ (brazo corto)	D ₂ (brazo largo)	D ₃	D ₄	
Efecto sobre adenilciclasa	Estimulan	Estimulan	Inhiben	Inhiben	Inhiben ?	Inhiben ?	
Localización	Posinápticos	?	Presinápticos	Posinápticos	Presinápticos	?	
Distribución en el cerebro	Estriado, núcleo <i>accumbens</i> , tubérculo olfatorio y corteza cerebral	Núcleo caudado-puntamen, núcleo <i>accumbens</i> , tubérculo olfatorio y, en baja proporción, en la corteza cerebral	Estriado, sustancia negra, tubérculo olfatorio, corteza cerebral, área tegmental ventral, núcleo caudado y área retrorubral	Núcleo <i>accumbens</i> , sustancia negra, estriado, <i>septum</i> lateral, tálamo y globo pálido	Tubérculo olfatorio, hipotálamo, núcleo <i>accumbens</i> , cerebelo, sustancia negra, amígdala, hipotálamo, hipófisis y, en baja proporción, en la corteza cerebral	Corteza frontal, mesencéfalo, amígdala y bulbo raquídeo	
Distribución en la periferia	Sistema cardiovascular, glándula paratiroides	Sistema cardiovascular	Sistema cardiovascular, corazón, hipófisis	Participa en algunos aspectos motores y en la emisión de conductas asociadas con aspectos motivados.	?	Sistema cardiovascular, corazón y retina	
Función	Regula funciones motoras y cardiovasculares. Participa en la regulación de los mecanismos del ciclo sueño-vigilia	?	Autorreceptor. Participa en funciones motoras, en algunos aspectos de la emoción y en la integración y expresión de las conductas motivadas. Regula la síntesis y la liberación de dopamina, así como la secreción de prolactina en la hipófisis; funciones cardiovasculares	Está involucrado en el trastorno depresivo. Función moduladora a nivel posináptico	Participa de manera importante en la integración y la expresión de eventos motores. Está involucrado en la fisiopatología de la esquizofrenia	En el sistema límbico está relacionado con la fisiopatología de la esquizofrenia y otras enfermedades psiquiátricas. Regulación cardiovascular	

positivo, e igualmente se hace menor la actividad motora y exploratoria del animal, aun bajo el tratamiento con drogas estimulantes del SNC. Del mismo modo, la disfunción dopaminérgica del sistema mesolímbico se vincula con alteraciones en la conducta motora y con falta de motivación.

Como ejemplo de lo anterior puede citarse el empleo de metodologías como la lesión de las neuronas dopaminérgicas con el neurotóxico 6-hydroxidopamina (6-OHDA), la cual ha demostrado el papel funcional de la dopamina del sistema mesolímbico en la conducta de recompensa y en la actividad motora. La destrucción de esas neuronas, produce una serie de déficit de la actividad motora espontánea y exploratoria, lo que conduce al síndrome del déficit sensoriomotor, caracterizado por afagia y adipsia. Por otra parte, la aplicación de dosis altas de antagonistas a los receptores dopaminérgicos influye de manera negativa sobre diversos aspectos de la motivación, especialmente en la fase anticipatoria (pulsión y aproximación) y la consumatoria (acto realizado) de diversas conductas. Las alteraciones observadas después de la destrucción selectiva del sistema dopaminérgico, sugieren que la vía mesolímbica constituye una parte de la base anatomofuncional por medio de la cual el cerebro elabora, organiza y coordina estrategias motoras dirigidas a conseguir experiencias gratificantes.

Además, se propone que el retraso psicomotor, la falta de motivación y el bajo estado emocional que caracteriza a los pacientes con trastornos afectivos, como la depresión, se deben en parte a la disfunción dopaminérgica, puesto que en algunos de ellos se detectan concentraciones plasmáticas disminuidas de dopamina; de su metabolito, el ácido dihidroxifenilacético, y de los receptores dopaminérgicos D_2 localizados en el estriado y el núcleo *accumbens*. En apoyo a estas observaciones clínicas, en los animales sometidos a diversos factores estresantes y que adquieren la desesperanza conductual caracterizada por una disminución de la actividad motora y de la motivación por resolver una situación de apremio, así como por conductas sugerentes de anhedonia (incapacidad para experimentar placer) se encuentra una disminución de la actividad dopaminérgica en el sistema mesolímbico. En este sistema se ha encontrado reducción de la dopamina extracelular, así como disminución de la síntesis del ácido ribonucleico mensajero (mRNA) que codifica los receptores a dopamina D_2/D_3 en el núcleo *accumbens* y en otras estructuras como el cuerpo estriado.

En la prueba de nado forzado, ratas o ratones son introducidos a un estanque cerrado. Pronto, los animales caen en cuenta de que no hay escape posible y despliegan un estado de desesperanza, en el que abandonan su intento por escapar y tienden a mantenerse simplemente a flote, inmóviles. De modo notable, diversos fármacos antidepresivos disminuyen el tiempo de inmovilidad. Es de particular interés el que este efecto antiinmovilidad sea compartido por inhibidores de la recaptura de dopamina como el bupropión. Entonces, la disminución de la inmovilidad ejercida por los antidepresivos se debe al incremento de la motivación del animal para buscar una salida a la situación de apremio que representa el nado forzado, hallándose probablemente asociada con la activación del sistema dopaminérgico mesolímbico.

En apoyo a esta idea, la aplicación *in situ* en el núcleo *accumbens* de antagonistas dopaminérgicos D_2 , como el sulpiride, cancela las acciones antiinmovilidad de los antidepresivos; un efecto que también se observa con la administración sistémica de los antagonistas dopaminérgicos. Lo anterior señala que el sistema dopaminérgico y los receptores D_2 participan en el efecto motivacional de los antidepresivos, el cual quizá está representado por la recuperación de cierto grado normal de hedonismo en el individuo deprimido que sana.

Con base en los datos antes mencionados se puede decir entonces que la dopamina en el sistema mesolímbico, y en particular en el núcleo *accumbens*, participa de manera importante en la integración de los procesos que de algún modo inician, dirigen, mantienen y

detienen una secuencia de conductas encaminadas a obtener una recompensa, lo que finalmente se traduce en la expresión de la conducta motivada; claro está, sin descartar la participación de los demás sistemas de neurotransmisión: noradrenérgico, serotoninérgico, GABAérgico, así como el de los neuroesteroides, los cuales se revisan a continuación.

NORADRENALINA

La noradrenalina (NA; también conocida como norepinefrina) es una hormona liberada por la médula de las glándulas suprarrenales bajo condiciones de temor o estrés, es el transmisor de las neuronas simpáticas posganglionares y produce diversos efectos periféricos autonómicos como taquicardia, ruborización, temblor de manos, entre otros, los cuales revelan la activación del sistema nervioso autónomo en su división del gran simpático. A nivel central, la síntesis de NA ocurre en los cuerpos celulares que se encuentran confinados en el tallo cerebral en grupos neuronales identificados desde A1 hasta A7, siendo el grupo A6, localizado en el *locus coeruleus* (LC), el más prominente. La NA se inactiva mediante su propia recaptura en la terminal presináptica, en donde la MAO la degrada por desaminación oxidativa. Existe también otra enzima que limita sus acciones, la catecol ortometiltransferasa, la cual limita la difusión de NA al espacio sináptico debido a la metilación que sufre un átomo de carbono en el anillo aromático de NA, con lo que se crean barreras de difusión por impedimento estérico.

Vías noradrenérgicas

El LC es la principal fuente de aporte de NA y proyecta sus fibras prácticamente a todo el cerebro; entre las áreas que reciben aferencias del LC se encuentran el cerebelo, la corteza cerebral y estructuras que conforman el sistema límbico. Específicamente, las vías noradrenérgicas son dos: la del LC (haz dorsal) y la del área tegmental lateral (haz ventral). La vía dorsal está localizada a nivel del puente y del mesencéfalo, mientras que la vía lateral se localiza en el puente y en la médula espinal (figura 3-3).

Receptores a noradrenalina

Los estudios farmacológicos en el SNC y sistema nervioso periférico indican que la NA puede actuar en cuatro subtipos distintos de receptores: α_1 , α_2 , β_1 y β_2 , aunque recientemente se han descubierto los subtipos α_1 (A, B, D), α_2 (A, B, C, D) y el β_3 . La clasificación de los primeros receptores adrenérgicos identificados originalmente surgió para explicar las acciones fisiológicas periféricas aparentemente opuestas de la adrenalina y NA, y su grado de afinidad por el receptor. Sin embargo, no siempre el resultado de la activación de estos receptores es antagonista, más bien depende del tipo de célula y la región cerebral en donde se encuentren, dado que tienen una amplia distribución en el sistema periférico y central (cuadro 3-2).

Implicación del sistema noradrenérgico en la motivación

Aunque se ha asumido que la dopamina posee la función central en los procesos motivacionales, la NA tiene una amplia participación en gran medida puesto que ambos neurotransmisores comparten la misma vía sintética (figura 3-1). El LC, por su parte, tiene una actividad tónica inherente que varía con el estado de alerta del animal. Diversos estímulos sensoriales pueden provocar respuestas de "lucha-huída", paralelas al incremento en el

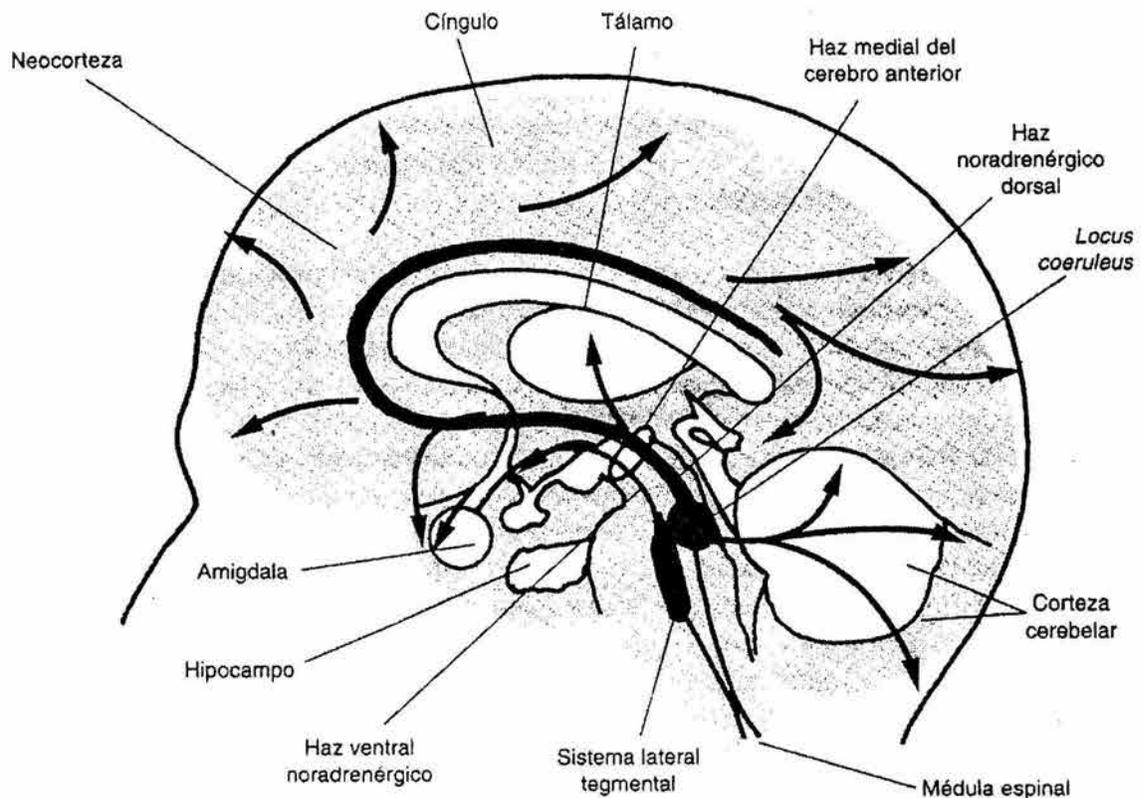


Figura 3-3. Vías noradrenérgicas. Se muestran las dos principales vías noradrenérgicas. El *locus coeruleus* es la principal fuente de fibras noradrenérgicas que proyectan hacia todo el sistema nervioso central.

recambio de NA en las terminales neuronales y a la activación de las neuronas noradrenérgicas periféricas, lo que resulta en la alteración de la conducta dirigida.

El origen de los fundamentos neurales y bioquímicos de la motivación se remonta a 1954 con las aportaciones de Olds y Milner sobre la autoestimulación intracraneal. Cuando a los animales en el experimento se les colocaron electrodos en estructuras límbicas, como el hipotálamo, y se les permitió el acceso a palancas con cuya presión podían autoestimularse, se observó que lo hicieron con mucha frecuencia. También las estructuras que se sitúan a lo largo del haz prosencefálico medial son sitios de recompensa, dado que son susceptibles a altas tasas de autoestimulación.

A pesar de que existen diferencias en las propiedades de recompensa de la autoestimulación intracraneal comparada con el agua y alimento, es claro que las catecolaminas, NA y dopamina, intervienen de manera directa. Esta conclusión parte de estudios hechos por Stein y Wise en 1969, quienes demostraron el aumento de la liberación de las catecolaminas en el hipotálamo, la amígdala e hipocampo, como consecuencia de la autoestimulación. Más tarde, los mismos autores reportaron que la lesión química de las terminales noradrenérgicas con 6-OHDA inyectado en el tercer ventrículo, produce un déficit importante en la tasa de autoestimulación.

La NA también ha sido reconocida como un neurotransmisor que tiene efectos sobre la ingesta de alimento en la rata. En este sentido, la inyección de agonistas a los receptores noradrenérgicos cerca del núcleo paraventricular del hipotálamo en una rata saciada, pro-

Cuadro 3-2. Receptores noradrenérgicos

Receptor	Subtipo	Características	Localización	Función
β_1		Estimula adenilciclase, y la liberación del neurotransmisor. Relacionados con la relajación del músculo liso, el metabolismo de grasas y la contracción del músculo cardíaco	Presináptica. Periférica: vasos sanguíneos, corazón, tejido adiposo, vesícula biliar. Central: cerebelo, <i>locus coeruleus</i> , núcleo caudado, cuerpo calloso, <i>septum</i> , hipocampo, corteza frontal y parietal, amígdala, cíngulo, tálamo, bulbo olfatorio	Regulación ciclo vigilia-sueño. Acciones antidepresivas (α). Respuesta al estrés. Participa en asma (β_2), obesidad (β_3), regulación cardiovascular (β), feocromocitoma (α, β), hipertensión (α, β), depresión (α y β), analgesia (α_2), agresión (α_2)
β_2				
β_3				
α_1	A	Activa fosfolipasas. Asociados con la contracción del músculo liso	Principalmente posináptico. Periférico: músculo liso, vasos sanguíneos, hígado, plaquetas, corazón. Central: <i>locus coeruleus</i> , corteza frontal, rafe dorsal, hipocampo, tálamo, corteza	
	B			
	D			
α_2	A	Inhibe adenilciclase. Asociados a la contracción del músculo liso	Presináptico y posináptico. Central: ganglios de la raíz dorsal, hipotálamo, área preóptica, <i>locus coeruleus</i> , <i>septum</i> , corteza, tallo cerebral, hipocampo, cuerpo geniculado	
	B			
	C			
	D			

duce consumo adicional de alimento. La porción del hipotálamo rostral que promueve la ingesta, contiene vías adrenérgicas que provienen del sistema de alerta que asciende desde el tallo cerebral hasta el cerebro anterior. La liberación de NA en esta región bloquea la integración de la información de saciedad y la de apetito, lo que regularmente controla la conducta de alimentación mediante la interacción entre las vías aferentes olfatorias con las de los receptores viscerales a través de algunas neuronas asociativas, localizadas probablemente en el sistema límbico o en la neocorteza.

Dichas neuronas hipotalámicas paraventriculares pueden estar inhibidas o facilitadas por la NA y, dependiendo de su condición, pueden impedir que se transmita información sobre el sabor y el estado de plenitud del tracto digestivo. Por tanto, cuando las vías adrenérgicas ascendentes están lo suficientemente activadas, los límites normales aprendidos sobre la ingesta pueden ser quebrantados lo que, por otra parte, abre una interesante alternativa para explicar el mecanismo neural de la sobrealimentación consecutiva a la ansiedad.

La recopilación de numerosos estudios al respecto proporciona las siguientes propuestas:

- los estudios de la liberación de NA durante el ayuno o la saciedad sugieren la participación

de regiones hipotalámicas en la conducta de alimentación; b) existen evidencias de la función causal de NA en la ingesta de alimentos de animales saciados, pero también existen diferencias interespecíficas de supresión de la conducta de ingestión después de la inyección de NA en el hipotálamo; c) los antagonistas noradrenérgicos como la fentolamina no sólo bloquean la inducción de la alimentación, sino que atenúan la ingestión espontánea después de la privación de alimento; d) parece que el sistema de inhibición de la ingesta de alimentos está constituido por la parte ventral del plexo de fibras noradrenérgicas en el tracto tegmental central y, por el contrario, el sistema de facilitación aparentemente está conformado por el componente dorsal del tracto tegmental central que termina en el hipotálamo paraventricular; e) la lesión con 6-OHDA en el haz ventral causa hiperfagia y ganancia de peso —pero aún no se tiene la certeza de que participe la NA— en tanto que la lesión electrofónica o con 6-OHDA en el haz dorsal hacia el LC no afecta la ingesta de alimento, aunque puede ocurrir hiperdipsia (exceso de ingesta de agua) cuando la lesión se produce hacia la zona adyacente no noradrenérgica del tegmento dorsolateral.

En relación con la conducta sexual, la NA ejerce una función de tipo facilitador, mientras que la lesión del LC, el bloqueo de la síntesis o la reducción de los niveles de NA, tienen un papel inhibitorio. El mecanismo de acción es complejo, así, la activación de los receptores α_1 facilita la cópula, mientras que la de los α_2 la inhibe; asimismo, se ha comprobado la acción inhibitoria de la activación α_2 adrenérgica sobre aspectos de la conducta sexual en hombres y mujeres. Sin embargo, la activación de estos receptores α tiene efectos opuestos sobre respuestas sexuales en otros contextos, por ejemplo, en las erecciones reflejas observadas en animales de laboratorio.

Al hablar de la neuroquímica de la emoción y la motivación, es indispensable hacer referencia al campo relacionado con los trastornos afectivos, puesto que algunos síntomas como alteración en el estado de ánimo, interés disminuido por las actividades cotidianas, pérdida de peso y sentimiento de inutilidad, son indicativos de la alteración en los componentes motivacionales del individuo. La hipótesis catecolaminérgica de los trastornos afectivos, propuesta desde 1965 por Schildkraut, estableció que la depresión está vinculada con la deficiencia de NA a nivel de los receptores noradrenérgicos, mientras que la manía se relaciona con un exceso de NA. Así, por ejemplo, en el individuo deprimido se presenta una disminución de los metabolitos de NA en orina y líquido cefalorraquídeo, además, los estudios *postmortem* han revelado un incremento en la densidad de los receptores a NA en la corteza cerebral de sujetos suicidas deprimidos.

Se puede pensar que una cantidad elevada de receptores es una señal de mayor contacto entre la NA y sus receptores y, por tanto, de una mayor neurotransmisión. De hecho, este incremento es lo que realmente se esperaría que ocurriera si las concentraciones de NA fueran anormalmente bajas a nivel sináptico. Esto es, cuando las moléculas del neurotransmisor se hacen inusualmente escasas en las sinapsis, las células posinápticas con frecuencia aumentan el número de receptores como un fenómeno compensatorio para detectar alguna señal disponible del neurotransmisor.

Así, muchos fármacos que interfieren en las sinapsis noradrenérgicas influyen en la regulación de estados emocionales, por ejemplo, la reserpina usada comúnmente para el tratamiento de la hipertensión arterial, provoca depresión grave. El mecanismo consiste en que la reserpina impide el almacenamiento de NA en la vesícula sináptica, de modo que la NA puede ser inactivada por la MAO. Los efectos conductuales provocados por la reserpina en ratas de laboratorio ejercen el mismo déficit conductual desencadenado por el estrés intenso y remedian algunos aspectos del síndrome depresivo como son la disminución de la

actividad motora, del apetito, del acicalamiento y disturbios del sueño. Varios fármacos antidepresivos como los tricíclicos, los IMAO, los atípicos, y la nueva clase de antidepresivos que poseen mayor especificidad sobre los sistemas de neurotransmisión (venlafaxina, nefazodona, mirtazapina y reboxetina), intensifican la acción de NA a nivel sináptico y elevan el estado de ánimo en el humano.

El sistema noradrenérgico, por otra parte, participa de manera importante en la regulación de la inmovilidad observada en animales que son introducidos en el modelo de nado forzado. Los inhibidores de la recaptura de NA como la imipramina, la desmetilimipramina, maprotilina y reboxetina son antidepresivos clínicamente eficaces y reducen la inmovilidad en la prueba de nado forzado a través de sus interacciones con los receptores β adrenérgicos y α adrenérgicos. Es interesante notar que el tipo de conductas activas que promueven el nado a través del sistema noradrenérgico es distinto del observado con el sistema serotonérgico, es decir, los fármacos que incrementan la neurotransmisión noradrenérgica incrementan conductas tendientes al escape, como el "trepado" en la prueba de nado forzado, lo que sugiere que la conducta motivada es regulada de manera diferencial a través de más de un sistema de neurotransmisión.

Finalmente, los estímulos sobre los que el animal no tiene control provocan fallas en la respuesta de afrontamiento y cambios neuroquímicos consistentes en la disminución de la tasa de disparo neuronal en el LC, alteraciones morfológicas neuronales, disminución de la actividad enzimática de la tirosina hidroxilasa, función presináptica disminuida y reducción de los sitios de unión de los receptores β adrenérgicos, interpretados como indicadores de una disminución en la habilidad noradrenérgica de las neuronas para responder. A pesar de la abundante evidencia de que los antidepresivos en los animales de experimentación producen cambios en las neuronas noradrenérgicas del LC y sus receptores, con respuestas similares a lo largo del tiempo a las observadas en humanos, no es posible concluir que los desórdenes bioquímicos de las neuronas noradrenérgicas sean responsables de la falta de motivación y anhedonia concomitantes a la depresión humana, o que los efectos de un tratamiento exitoso sean atribuibles a los cambios producidos en esas neuronas. Esa es la razón por la que resulta importante considerar el resto de las estructuras cerebrales asociadas y los demás neurotransmisores, para entender que el cerebro funciona a través de interacciones anatómicas, químicas y funcionales que hacen de la emoción y la motivación dos procesos altamente complejos.

SEROTONINA

En esta sección se abordará la función que desempeña la neurotransmisión serotonérgica en la motivación. Se dice que toda conducta está motivada cuando se dirige hacia alguna meta, pero este tipo de conducta es muy diversa, pues incluye proporcionarse comida, cortejar a la pareja, pintar un paisaje y así sucesivamente. En cada especie animal existe una conducta básica que está dirigida a mantener la supervivencia del individuo y de la especie. Hambre, sed, deseo sexual y el afecto por la prole, son algunos de los elementos fundamentales de la motivación claramente relacionados con la supervivencia. La investigación ha tratado, hasta donde parece posible, de identificar los circuitos neuronales y bioquímicos responsables de la integración de aquellas conductas que finalmente se emiten para satisfacer estas necesidades básicas. Entre estos circuitos se ha involucrado al sistema serotonérgico.

SÍNTESIS

La serotonina (5-HT), es una indolamina que se encuentra en muchas partes del organismo y en células que no son neuronas, como plaquetas, células cebadas y células enterocromafines. De hecho, sólo de 1 a 2% de la 5-HT corporal se encuentra en el cerebro. Sin embargo, la 5-HT es uno de los neurotransmisores que se ha relacionado en mayor grado con los procesos emocionales y motivacionales. Su síntesis depende del aporte de un aminoácido, el triptófano, proveniente de la dieta, el cual por hidroxilación se convierte en 5-hidroxitriptófano. La enzima responsable de esta reacción es la triptófano hidroxilasa. Luego, la 5-HT se obtiene por descarboxilación del 5-hidroxitriptófano (figura 3-4).

La mayor parte de la 5-HT producida es desactivada por la enzima MAO mitocondrial, siendo el producto de esta reacción el 5-hidroxiindolacetaldehído (5-HIA). Este compuesto es oxidado rápidamente por la deshidrogenasa alcohólica y transformado en ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA). Otro medio importante de inactivación serotoninérgica durante la sinapsis es un proceso activo de recaptura por autorreceptores en la neurona presináptica. Los metabolitos de la 5-HT son absorbidos a la sangre venosa por transporte activo en el plexo coroideo, para ser excretados por medio de la orina junto con otros metabolitos. En la mayor parte de las sinapsis, la 5-HT produce potenciales posinápticos inhibitorios, es decir, hiperpolarización y reduce la posibilidad de disparo neuronal en la neurona posináptica; además, su efecto sobre la conducta, por lo general, es de tipo inhibitorio.

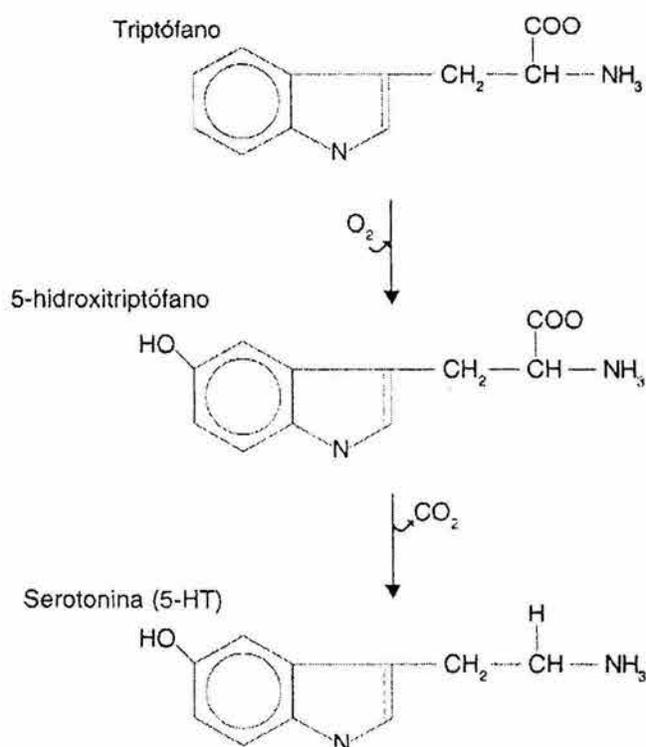


Figura 3-4. Biosíntesis de la serotonina. La serotonina se deriva del aminoácido triptófano. El primer paso en la reacción es catalizado por la enzima triptófano hidroxilasa. Esta enzima incorpora un grupo hidroxilo, produciendo 5-hidroxitriptófano. Otra enzima, la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos elimina el grupo carboxilo del 5-HTP y el resultado es serotonina.

VÍAS SEROTONÉRGICAS

En el SNC, las neuronas que contienen 5-HT están agrupadas en la línea media a nivel del tallo cerebral, en los llamados núcleos del rafe. Este complejo celular está formado por nueve grupos neuronales, de los cuales parten proyecciones que se dividen en dos ramas principales, una llamada ascendente medial y otra lateral, las cuales se originan en el rafe mesencefálico (B7, B8 y B9) y rafe pontino (B5 y B6). Estas vías corren por el haz del prosencéfalo y dan origen a terminales que inervan el hipotálamo, el sistema límbico, el núcleo estriado y la corteza cerebral. La rama descendente comprende los núcleos del rafe B1 a B3, los cuales proyectan hacia la médula espinal (figura 3-5). Estas vías serotoninérgicas son muy similares entre los vertebrados, lo que sugiere que los sistemas son filogenéticamente antiguos y pueden tener funciones similares en todos ellos.

RECEPTORES SEROTONÉRGICOS

Diversos estudios moleculares, bioquímicos y fisiológicos han demostrado la presencia de múltiples receptores a 5-HT en el sistema nervioso de los mamíferos. Los receptores serotoninérgicos se dividen en varios tipos de acuerdo con su afinidad por diferentes ligandos y, a su vez, cada familia tiene varios subtipos de receptores (cuadro 3-3). De esta manera, hasta hoy se han identificado siete tipos de receptores que comprenden a los 5-HT_{1A, 1B, 1C, 1D, 1E,}

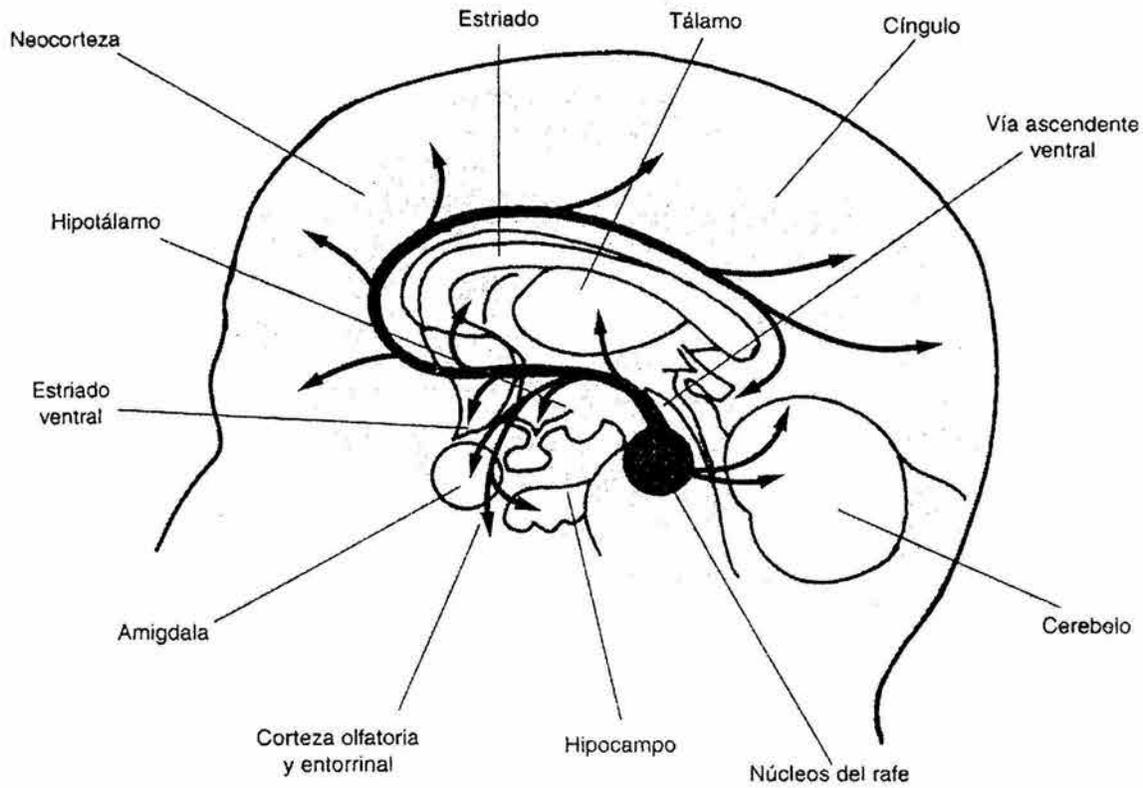


Figura 3-5. Vías serotoninérgicas. Se muestra la vía ascendente con sus proyecciones y sitios terminales. Los núcleos del rafe inervan mediante el haz medial del prosencéfalo, zonas límbicas, talámicas y corticales.

5-HT_{2A, 2B, 2C}, 5-HT₃, 5-HT₄ y hasta 5-HT₇. La activación de los receptores 5-HT produce cambios a través de segundos mensajeros acoplados a la fosforilación de moléculas intracelulares, a excepción del receptor 5-HT₃ que está acoplado a canal de cloro (Cl⁻).

IMPLICACIONES DEL SISTEMA SEROTONÉRGICO EN LA MOTIVACIÓN Y LA EMOCIÓN

En el SNC de los mamíferos, la 5-HT está implicada en la regulación de la temperatura corporal, la presión sanguínea y la secreción endocrina, en el control de los estados de sueño y vigilia, y en el ánimo, las emociones, la alimentación, la conducta sexual, algunos tipos de depresión, la conducta suicida y ciertos estados alucinatorios inducidos por drogas.

Con respecto a este último punto, durante mucho tiempo se sugirió la participación de la 5-HT en la psicosis, principalmente en la esquizofrenia. En esta patología es común encontrar distorsiones en las conductas motivadas como consecuencia de las alucinaciones que presentan los pacientes, es decir, los individuos esquizofrénicos perciben estímulos que no están presentes pero que constituyen su realidad, como el escuchar voces, en ocasiones imperativas, otras veces perciben olores que se transforman en delirios de que otros intentan asesinarlos, quizá con algún gas venenoso. Además, se debe agregar la presencia de un desgano notable, completa falta de iniciativa incluso en las tareas más simples de higiene y aseo personal, una franca tendencia hacia aislarse de la familia y la sociedad y, por último, la desmotivación persistente con respecto a prácticamente toda situación.

Ciertas sustancias, llamadas indólicas puesto que contienen en su estructura el núcleo indol o incluso la estructura completa de la 5-HT, son potentes alucinógenos, como la psilocina y la psilocibina, alcaloides contenidos en ciertas especies de hongos. Algunos derivados metilados de la triptamina y la 5-HT, como la bufotenina, la N,N-dimetiltriptamina (DMT) y la 5-metoxi-DMT, también son alucinógenos. El LSD, dietilamida del ácido lisérgico, es una droga alucinógena que comparte la estructura del metoxiindol de la 5-HT y, quizá, interfiere con la función de los autorreceptores a nivel del núcleo del rafe. El sujeto que la consume tiene las pupilas dilatadas e incremento de la presión arterial, de la frecuencia cardíaca y de la temperatura corporal; sus manifestaciones conductuales indican la presencia de una percepción alterada. Llama la atención que muchas personas disfrutan al alterar sus estados de conciencia y, por ello, muchas de estas drogas se convierten en adictivas.

La 5-HT, por otra parte, también se encuentra involucrada en la regulación del apetito. La conducta alimenticia es uno de los mejores ejemplos de motivación porque se trata de una conducta que está claramente dirigida hacia la obtención de comida, esencial para la supervivencia. Además, es incuestionable que el cerebro está íntimamente relacionado con el control de la alimentación y, por tanto, el análisis de la conducta alimenticia puede tener aplicaciones prácticas mejorando la comprensión que se tiene en la actualidad de, por ejemplo, la obesidad humana.

Existe una fuerte evidencia de la función inhibitoria que ejerce la 5-HT sobre la alimentación, de manera que los fármacos que aumentan la actividad serotonérgica suprimen el consumo de alimento. Así, la 5-HT y los fármacos que liberan 5-HT (p. ej., fenfluramina y dexfenfluramina), o bien inhibidores selectivos en la recaptura de 5-HT (p. ej., fluoxetina, fluvoxamina y sertralina), facilitan los mecanismos serotonérgicos y reducen el apetito al actuar sobre los receptores 5-HT_{1C}. Por el contrario, la administración de agonistas 5-HT_{1A} (p. ej., buspirona o gepirona) reduce la liberación de 5-HT a nivel presináptico y provoca hiperfagia.

Cuadro 3-3. Subtipos de receptores serotoninérgicos

Receptor y subtipos	Características	Localización	Función central
5-HT1A	Su activación inhibe a la adeniliciclasa	Presináptica y posináptica. Núcleo del rafe dorsal, capa CA1 del hipocampo, núcleo septal lateral, corteza cerebral, hipotálamo, sustancia gelatinosa de la médula espinal, bulbo olfatorio y algunos núcleos amigdalinos	Efecto alucinatorio, temerregulación, conducta sexual, memoria, control de la ingesta de alimentos, aprendizaje y en agresión. Implicado de manera importante en la ansiedad y en la depresión
B	Inhibe adeniliciclasa	Autorreceptor Sustancia negra, globo pálido y subículo dorsal, CA1 del hipocampo, corteza, rafe, cerebelo	Su estimulación causa anorexia en ratas. También está implicado en el comportamiento agresivo
C	Incrementa el recambio de fosfatidilinositol	Plexo corioideo, núcleo olfatorio anterior, amígdala, habénula lateral, núcleo subtalámico, sustancia negra, núcleo <i>accumbens</i> , corteza olfatoria primaria, ganglios basales y en vías serotoninérgicas descendentes	En roedores, su estimulación causa hipofagia y ansiedad
D	Inhibe adeniliciclasa	Autorreceptor Núcleo caudado, sustancia negra y en la capa IV de la neocorteza, corteza prefrontal e hipocampo	Posible implicación en el mecanismo de acción de fármacos antimigrañosos
E	Inhibe adeniliciclasa	En las capas CA1, CA2, CA3 del hipocampo, en el caudado/putamen	No se conoce
5-HT2A	Activa el recambio de fosfatidilinositol	Áreas corticales 8, 9, 10, 18, 19, 22, 24 y 46 de Brodman, hipocampo, amígdala, núcleo <i>accumbens</i> , hipotálamo	En la fisiopatología de diversos desórdenes neuropsiquiátricos: esquizofrenia, trastornos del estado de ánimo y comportamiento suicida
B	Activa el recambio de fosfatidilinositol	Corteza y sistema límbico	En roedores su estimulación causa ansiedad, hiperfagia y reducción del aseo. Involucrado en la fisiopatología de la migraña
C	Estimula recambio de inositol 1, 4, 5 triptofano	Formación septohipocámpal	Implicado en el desorden obsesivo-compulsivo, depresión, actividad exploratoria y locomoción (funciones hipocámpales)
5-HT3	Activa la guaniliciclasa cational iónica	Corteza entorrinal, núcleo <i>accumbens</i> , núcleo amigdalino cortical, capa plexiforme externa del bulbo olfatorio, hipocampo, en el estriado ventral	Modula la actividad dopaminérgica central, liberación de acetilcolina, ansiedad y depresión, aprendizaje y memoria
5-HT4	Estimula adeniliciclasa	Hipocampo y específicamente en los colículos, ganglios basales, núcleo <i>accumbens</i>	Probablemente involucrado con la enfermedad de Alzheimer y en la ansiedad
5-HT5A	Acoplado a proteínas G _i /Go e inhibe la adeniliciclasa	Capas II, III, V, VI de la corteza cerebral, hipocampo, habénula, bulbo olfatorio, capa granular del cerebelo, giro dentado	Modula la actividad neuronal del circuito involucrado en la actividad exploratoria y algunos efectos psicotrópicos del LSD
B	Acoplado a proteínas G	Habénula medial, capas CA1 del hipocampo	No se conoce
5-HT6	Acoplado a adeniliciclasa via proteínas G	Sistema límbico: amígdala, núcleo <i>accumbens</i> , hipocampo, tubérculo olfatorio y en el estriado	Ansiedad y depresión
5-HT7 h-5HT7a h-5HT7b	Estimula adeniliciclasa	Hipotálamo, tálamo, hipocampo, tallo cerebral, núcleo supraquiasmático	Posiblemente involucrado en el control de los ritmos circadianos

Tal es la razón por la que la fenfluramina, un agonista serotoninérgico, es comúnmente utilizada en el tratamiento de la bulimia nerviosa (del griego *buey* "buey" y *limós* "hambre"), desorden que consiste en consumir alimento de manera excesiva e inducir después el vómito, o que a veces involucra el uso indiscriminado de laxantes, todo ello aunado a sentimientos de depresión y culpa. También este fármaco se emplea en personas obesas que intentan perder peso. Esta droga parece ejercer sus efectos al facilitar los receptores de 5-HT en el hipotálamo, principalmente en el núcleo paraventricular. Los medicamentos que destruyen las neuronas serotoninérgicas o que bloquean sus receptores, tienen un efecto opuesto, pues aumentan el deseo de ingerir alimentos. Además de ello, la administración de triptófano, el precursor de la 5-HT también disminuye el consumo de alimentos en ratas.

La 5-HT es uno de los neurotransmisores específicamente más relacionado con los mecanismos neurobiológicos de los comportamientos sociales y agresivos. Toda conducta agresiva tiene como propósito establecer jerarquías en un grupo para controlar recursos del tipo de territorios, comida o parejas sexuales. Muchos estudios han demostrado que las ratas de laboratorio despliegan bruscamente una conducta muricida (aniquilamiento de ratones, con ferocidad) después de que han sido lesionadas en los núcleos del rafe con las neurotoxinas 5-6 o 5-7-dihidroxitriptamina, las cuales destruyen las terminales serotoninérgicas y disminuyen el contenido de 5-HT en esas neuronas. De modo notable, la administración de drogas que inhiben la síntesis de 5-HT, como la paraclorofenilalanina (PCPA), la cual bloquea la enzima limitante triptófano hidroxilasa, reducen la 5-HT circulante y la eliminación urinaria de 5-HIAA, promoviendo la agresividad.

Además, las drogas que facilitan la transmisión serotoninérgica, al inhibir la recaptura de 5-HT por la terminal presináptica (p. ej., fluvoxamina o fluoxetina), tienen un efecto inhibitorio al reducir los componentes ofensivos de la agresión en animales de laboratorio evaluados en diversos modelos experimentales de agresión. Estas observaciones sustentan el hecho de que actualmente se utilicen inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT en el tratamiento de los desórdenes conductuales cuyos procesos motivacionales se encuentran distorsionados, como es el caso de la personalidad antisocial, trastorno en el que el individuo dirige su conducta agresiva y violenta hacia otras personas e incluso hacia sí mismo, como sucede con la persona deprimida que intenta el suicidio. Una característica común en estos pacientes es que tienen niveles reducidos del principal metabolito de la 5-HT (5-HIAA), aunado a niveles elevados de impulsividad y comportamientos autodestructivos.

En pacientes deprimidos se ha encontrado la correlación entre el estado de ánimo abatido y la falta de motivación con la disminución en el contenido del 5-HT cerebral y de 5-HIAA en el líquido cefalorraquídeo y en la orina. Algunos fármacos que aumentan la 5-HT cerebral reducen los síntomas depresivos, aunque el éxito clínico depende del tratamiento farmacológico empleado, del tipo de depresión y de la sensibilidad del individuo.

El uso de un modelo animal para el estudio experimental de la depresión, como la prueba de nado forzado, permite establecer una correlación entre los cambios en la actividad serotoninérgica y la conducta motivada. Se ha observado que existe un predominio de la conducta de inmovilidad asociado con una reducción en los niveles extracelulares de 5-HT en estructuras límbicas como el núcleo septal. En concordancia, cuando las ratas son pretratadas con fluoxetina, durante la prueba de nado forzado los valores extracelulares de 5-HT se incrementan significativamente y se reduce la inmovilidad. Asimismo, el sistema serotoninérgico parece estar involucrado en la ansiedad, ya que diversos fármacos agonistas 5-HT_{1A}, como buspirona, ipsapirona y gepirona, han mostrado tener propiedad ansiolítica evaluada tanto a nivel experimental como clínico.

En conclusión, el sistema serotoninérgico se encuentra involucrado en diversos procesos neuropatológicos de enfermedades psiquiátricas, así como en múltiples funciones relacionadas con aspectos motivacionales de la conducta, lo cual permite entender algunos de los procesos neurobiológicos que los subyacen.

OPIOIDES ENDÓGENOS

Los opioides endógenos constituyen una familia de péptidos que fueron descritos por vez primera en 1975 por Hughes y Kostr-Litz. La palabra "endógeno" hace referencia a que se producen dentro del organismo, en tanto que "opioides" a que algunas de las primeras observaciones sugirieron que sus acciones eran semejantes a las de las drogas derivadas del opio —como la morfina—, las cuales ejercen principalmente acciones analgésicas y hedónicas; además de estar relacionadas con procesos motivacionales asociados con la adicción a las drogas.

Hasta el momento se ha identificado a tres familias de péptidos endógenos: encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Cada una deriva de un péptido precursor diferente y presenta una distribución característica en el cerebro. Los precursores inmediatos son: proencefalina, proopiomelanocortina y prodinorfina, respectivamente. Cada uno de estos péptidos endógenos codifican con receptores particulares y ejercen funciones específicas en el SNC (cuadro 3-4).

Cuadro 3-4. Receptores a opioides

Receptor	Ligando prototipo	Función
μ (μ) $\mu 1$	Morfina y la mayoría de los péptidos opioides	Analgesia supraespinal Liberación de prolactina Euforia
$\mu 2$	Morfina	Depresión respiratoria Reducción del tránsito intestinal Efectos cardiovasculares Recambio de dopamina en el SNC Ingesta
δ (delta)	Encefalinas y análogos pentapéptidos	Analgesia espinal Recambio de dopamina en el SNC
κ (kappa)	Ketociclazocina Pentazocina	Analgesia espinal Inhibición de la liberación de la hormona antidiurética Euforia Efectos psicomiméticos de desorientación y despersonalización Sedación Recambio de dopamina en el SNC
ϵ (épsilon)	β endorfina	Analgesia

IMPLICACIÓN DE LOS OPIOIDES EN LA MOTIVACIÓN Y LA EMOCIÓN

Las propiedades psicotrópicas de los opioides han sido ampliamente estudiadas, así como la distribución regional de sus receptores en el SNC. En estos estudios se encontró que los opioides pueden modificar la actividad de las neuronas dopaminérgicas mesolímbicas que participan en la regulación de la conducta motora asociada con un evento motivado; asimismo, se les ha relacionado con varios aspectos del desarrollo de la dependencia a drogas potencialmente adictivas.

Las encefalinas y las endorfinas son sustancias que se producen en el organismo y provocan una acción farmacológica semejante a la morfina (analgesia y algunos efectos placenteros), efecto que es antagonizado por la naloxona. Tanto la morfina como las encefalinas actúan sobre receptores altamente específicos que se encuentran en estructuras del sistema límbico, tálamo, hipotálamo, cuerpo estriado, mesencéfalo y médula espinal, principalmente. Estos sitios tienen una participación muy importante en la percepción del dolor, en la modulación del estado de ánimo y en algunos aspectos motivacionales del individuo; por ejemplo, los soldados que son heridos en combate informan no haber sentido dolor, al menos mientras se encontraban en peligro. La explicación que se ha dado a este tipo de eventos, sugiere que durante estas situaciones se promueve la liberación de encefalinas en el cerebro, las cuales a su vez ocupan los receptores de los opioides y activan los mecanismos descendentes de inhibición del dolor.

Los sucesos naturales que también son capaces de promover este tipo de analgesia incluyen el estrés y el miedo. Estos eventos desencadenan la liberación de encefalinas, de modo que también pueden activar los mecanismos que inhiben la percepción del dolor. Asimismo, el cerebro es capaz de sintetizar y liberar encefalinas y endorfinas durante el ejercicio, las cuales de cierto modo promueven un efecto placentero y motivacional en el individuo, lo que le inducirá a seguir ejercitándose.

De igual manera, también durante actividades cotidianas como la alimentación y la actividad sexual se liberan en el cerebro este tipo de sustancias, ejerciendo un efecto placentero que al parecer se relaciona con algunos aspectos motivacionales y emocionales de la conducta. Por otra parte, la administración directa de opiáceos en el cerebro puede ser utilizada como un reforzador positivo. En síntesis, este grupo de sustancias participa por lo menos en la analgesia y en ciertas actividades hedónicas, que son sólo dos de los muchos efectos que tienen el opio y sus derivados; sin embargo, por motivos históricos se ha mantenido el término opioide.

NEUROESTEROIDES

La ansiedad es una de las enfermedades relacionadas con alteraciones en la emoción cuya incidencia en la población mundial va en aumento, de ahí la preocupación existente por establecer algún control sobre ella. Desde hace milenios al opio se le atribuyen propiedades antitusígenas, antiespasmódicas, analgésicas y ansiolíticas. Sin embargo, hasta 1947 Sternback logró la síntesis del clordiazepóxido, puesto en circulación en 1958, lo cual dio origen a una industria dedicada a manejar la ansiedad con mayor eficacia y con menos

efectos colaterales. El meprobamato introducido por Berger en 1954, por ejemplo, resultó ser un excelente ansiolítico y, por esta razón, poseía una elevada potencia adictiva, lo que constituye el principal efecto adverso de los ansiolíticos.

Los diversos fármacos ansiolíticos ejercen sus acciones a través del sistema GABAérgico, el cual también ha sido involucrado en alteraciones del estado de ánimo así como en las acciones de las hormonas esteroidales. Estas últimas, durante algún tiempo fueron relacionadas exclusivamente con funciones reproductivas. Sin embargo, en la actualidad se reporta que las hormonas esteroidales ejercen efectos sobre algunas estructuras del SNC involucradas en diversos aspectos motivacionales de la conducta, por lo que han sido propuestas como neuromoduladoras del estado de ánimo.

Las hormonas esteroidales participan en el desarrollo, el crecimiento, la maduración y la diferenciación sexual del SNC y sistema nervioso periférico, en mecanismos de retroalimentación, activación de vías neurales, así como en la modulación de conductas reproductivas y no reproductivas. Las hormonas esteroidales, dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas y de su concentración, pueden mejorar o deteriorar el funcionamiento neuronal. Los esteroides que interactúan con receptores intracelulares pueden modificar la expresión de enzimas y receptores en estructuras neuroendocrinas específicas. Sin embargo, en años recientes se ha demostrado que los esteroides también interactúan con receptores de membrana, lo que tiene como consecuencia cambios en la excitabilidad neuronal. Se supone que estas acciones constituyen el mecanismo a través del cual los ejes hipotálamo-hipófisis-gónada e hipotálamo-hipófisis-suprarrenal ejercen control sobre procesos metabólicos, conductuales, cognitivos y motivacionales.

Las hormonas esteroidales secretadas por las gónadas y por las glándulas suprarrenales atraviesan la barrera hematoencefálica para actuar sobre el SNC y reciben el nombre de esteroides neuroactivos. Sin embargo, el cerebro de la rata posee sistemas enzimáticos encargados de la producción de hormonas esteroidales a partir del colesterol o de sus precursores que ingresan al SNC y que, en conjunto, se denominan neuroesteroides, los cuales pueden estar como neuroesteroides no conjugados (libres), conjugados o ambos, en forma de sulfatos o de ésteres de ácidos grasos. Las diferentes formas de esteroides han sido propuestas como participantes en la regulación del estrés y la ansiedad.

SÍNTESIS

La síntesis de neuroesteroides se inicia a partir del colesterol, el cual es biotransformado a pregnenolona (PREG) en las células gliales misma que, a su vez, da origen a progesterona (P) o desoxicorticosterona (DOC). Estos compuestos son reducidos de manera irreversible y generan los metabolitos dihidroprogesterona (DHP) y dihidrodesoxicorticosterona (DHDOC), los cuales pueden ser reducidos a los metabolitos neuroactivos alopregnanolona (THP) y tetrahidrodesoxicorticosterona (THDOC). El contenido cerebral de la hormona dehidroepiandrosterona (DHEA) es independiente de glándulas esteroideogénicas periféricas, y aun cuando su origen es desconocido, se sabe que es un metabolito de la pregnenolona. Por otra parte, la progesterona se biotransforma a androstenediona (AD) que, a su vez, da origen a la testosterona (T), la cual forma estradiol mediante las enzimas aromatasas. Recientemente también se ha detectado la presencia de PREG y DHEA en forma de sulfato (figura 3-6).

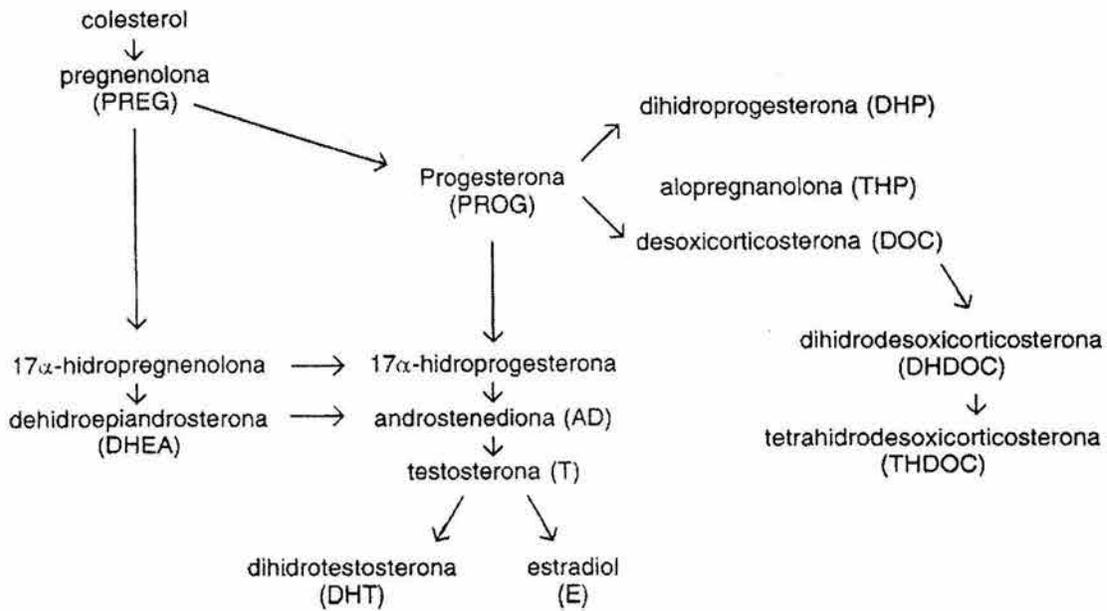


Figura 3-6. Síntesis de neuroesteroides.

IMPLICACIÓN DE LOS NEUROESTEROIDES EN LA MOTIVACIÓN Y LA EMOCIÓN

Las hormonas esteroidales actúan en varias áreas cerebrales, su mecanismo de acción involucra la activación de receptores de membrana, lo cual promueve cambios inmediatos en la excitabilidad neuronal, en tanto que la interacción con receptores nucleares tiene como consecuencia modificaciones sobre la síntesis de proteínas. Lo anterior explica la capacidad de las hormonas esteroidales para producir modificaciones a corto y largo plazo en algunos sistemas de neurotransmisión.

Los esteroides neuroactivos y los neuroesteroides pueden actuar a nivel neuronal sobre diferentes tipos de receptores de membrana: a) receptores para neurotransmisores, sobre los cuales ejercen una modulación alostérica; b) receptores de membrana acoplados a proteínas G; c) mediante sitios específicos de membrana utilizando al calcio como mensajero intracelular. Sin embargo, se sugiere otra posibilidad, aquella que involucra la interacción de los neuroesteroides con receptores de neuropéptidos unidos a la membrana (cuadro 3-5).

Los neuroesteroides ejercen sus principales acciones modificando la funcionalidad del sistema GABAérgico. El ácido γ-aminobutírico (GABA) se produce a partir del ácido L-glutámico y es el principal inhibidor del SNC al producir hiperpolarización de las neuronas posinápticas incrementando el flujo de iones cloro hacia el interior de la célula. Los receptores GABAérgicos se clasifican en: 1) GABA_A, que es un receptor posináptico ionotrópico que está acoplado a un canal de cloro, posee sitios alostéricos para benzodiazepinas, barbitúricos y posiblemente neuroesteroides; y 2) el GABA_B, que es un receptor metabotrópico acoplado a segundos mensajeros, su activación induce una hiperpolarización que podría ser propiciada por la salida de iones K, o bien por el cierre de canales de calcio.

Hacia 1980, se demostró que los neuroesteroides THP y THDOC modifican la excitabilidad neuronal por interacción con el receptor GABA_A e incrementan el ingreso de iones

Cuadro 3-5. Acciones de los neuroesteroides

Nombre	Receptor	Efectos
Pregnenolona	Agonista GABAérgico	Mejora la memoria, disminuye los síntomas del SPM
Sulfato de pregnenolona	Antagonista GABAérgico Modulador positivo NMDA	Mejora la memoria.
Progesterona	Agonista GABAérgico	Sedante, ansiolítico, antiagresión, antidepresivo, facilita conducta sexual (apareamiento), mejora la sintomatología de SPM
Dihidroprogesterona	Agonista GABAérgico	Disminuye los síntomas del SPM
Alopregnanolona	Agonista GABAérgico	Anestésico, ansiolítico, antiagresión, anticonvulsivante, anticonflicto, atenúa la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal ante el estrés emocional, facilita el apareamiento, disminuye los síntomas del SPM
Tetrahydrodesoxicorticosterona	Agonista GABA	Regula la respuesta al estrés
Testosterona	Receptor a andrógenos	Agresión, interacción social, ansiedad, regula la conducta sexual
Dehidroepiandrosterona	Antagonista GABA	Mejora la retención de memoria
Estradiol	Receptor para estrógenos	Incrementa la ansiedad, depresión; induce la conducta sexual

SPM, síndrome premenstrual.

cloro provocado por el GABA. Algunos neuroesteroides son considerados modulares alostéricos positivos del receptor GABA_A dado que incrementan la frecuencia y la duración de la apertura de los canales para el cloro. Las acciones que ejercen los neuroesteroides sobre el SNC dependen de los cambios en su conformación que sufren durante su biotransformación. Así, los metabolitos 3 α reducidos que contienen un grupo hidroxilo libre poseen una mayor efectividad para incrementar las acciones inhibitorias mediadas por el GABA, mientras que la hidroxilación en la posición 11 α y 12 α reduce considerablemente la actividad sobre el sistema GABAérgico. Dependiendo del grupo funcional que se encuentre en el carbono 17 de la serie de metabolitos 5 α reducidos, serán los efectos inhibitorios (17 β acetyl > 17 β ciano > 17 β metoxicarbonil > 17 α acetyl > 17 -ona > 17 -oxima o 17 α ciano). La presencia de dobles enlaces (entre los carbonos 9 y 11) también modifica la capacidad de los metabolitos para producir efectos inhibitorios mediados por el sistema GABAérgico.

Las alteraciones funcionales del sistema GABAérgico han sido relacionadas con los trastornos del estado de ánimo. Se ha sugerido que la depresión puede resultar de déficit GABAérgicos, esto se apoya en el hecho de que algunos pacientes deprimidos tienen bajas concentraciones plasmáticas de GABA, mientras que en sujetos suicidas disminuye el número de receptores GABA_A, y a que diversos fármacos con acciones agonistas sobre el GABA son, a la vez, excelentes anticonvulsivantes y poseen propiedades antidepresivas y ansiolíticas.

A lo largo de la vida reproductiva de la mujer, por otra parte, aparecen periodos en los que se exacerban la incidencia y gravedad de las alteraciones del estado de ánimo. Tal es el caso del periodo premenstrual, del posparto y de la menopausia, los cuales se caracterizan por la presencia de depresión y ansiedad, lo que coexiste con valores bajos de hormonas gonadales. Por el contrario, durante la ovulación y a partir del segundo tercio del embarazo, cuando las concentraciones hormonales gonadales están elevadas, las mujeres reportan una mejoría en su estado de ánimo. Esto ha llevado a proponer que las hormonas esteroideas son neuromoduladoras del estado de ánimo y que sus acciones estarían mediadas, al menos parcialmente, por el sistema GABAérgico.

Durante algún tiempo, la única función asignada a la progesterona fue como responsable del establecimiento de los caracteres sexuales femeninos, sin embargo, ahora se sabe que en animales de experimentación la progesterona y otras progestinas (precursores y metabolitos de la progesterona) inducen anestesia, analgesia e hipnosis por acciones directas sobre el receptor $GABA_A$. En modelos animales empleados para evaluar la ansiedad, se ha encontrado que la progesterona ejerce un efecto ansiolítico, el cual se atribuye principalmente a sus metabolitos reducidos, como la THP.

La progesterona mejora la ejecución de pruebas conductuales útiles para evaluar la potencia de fármacos antidepresivos (pruebas de nado forzado y suspensión del rabo). En las hembras existe una correlación positiva entre las concentraciones de progesterona y la capacidad del animal para resolver la situación de apremio que enfrenta, por tanto, la progesterona se comporta como un ansiolítico y antidepresivo endógeno; esto concuerda con los hallazgos clínicos. Por otra parte, en la rata macho se sugiere una relación positiva entre la desesperanza conductual y los niveles plasmáticos de testosterona, aunque el responsable directo podría ser el estradiol.

El estradiol es la hormona más potente para restaurar tanto la conducta sexual como la citología vaginal característica durante la fase de estró. Los estrógenos por sí mismos inducen la conducta de estró, pero este efecto se presenta con mayor intensidad cuando los animales impregnados con estradiol reciben una inyección de progesterona. Esto es importante, si se considera que la expresión de la conducta reproductiva involucra un componente motivacional, el cual podría estar mediado por la combinación estradiol-progesterona. Lo anterior puede explicarse considerando la capacidad del estradiol para activar receptores a progesterona y modificar la expresión de receptores GABAérgicos. La ovariectomía incrementa hasta cuatro veces el número de estos receptores en el hipotálamo mediobasal, el área preóptica medial, la amígdala corticomedia y la corteza cerebral, mientras que el tratamiento con estradiol y progesterona restaura los valores en la concentración de receptores GABAérgicos a los presentados antes de la cirugía.

El sistema nervioso inicialmente es asexual. Los receptores al estradiol se desarrollan en ambos géneros, pero en el macho la testosterona es convertida a estradiol en el cerebro y la formación del complejo estradiol-receptor es trasladado al núcleo de la célula, donde regula la transcripción genética que organiza el cerebro del macho. En la rata macho adulta, el aporte de testosterona está dado por la gónada y las glándulas suprarrenales.

La enzima aromatasa o estrógeno sintetasa que cataliza la conversión de andrógenos a estrógenos, está presente en el SNC de los vertebrados; además de ser abundante en la placenta y el tejido gonadal. La aromatización de andrógenos a estrógenos en el SNC es necesaria para el desarrollo y la manifestación de muchas conductas y respuestas endocrinas en animales adultos. Existen dos sistemas neuronales de aromatasa, el hipotalámico o diencefálico, el cual desaparece 10 días después de la gonadectomía en la rata, y el sistema

telencefálico subcortical o límbico, que no se modifica condicho procedimiento. El primero parece participar en conductas reproductivas dependientes de estrógenos, mientras que el sistema telencefálico está relacionado con la modulación de conductas motivacionales sensibles a hormonas esteroidales.

Además de las interacciones ya mencionadas entre neuroesteroides y el sistema GABAérgico, las hormonas esteroidales promueven la expresión de receptores a 5-HT. En efecto, la concentración de 5-HT, la de diferentes subtipos de receptores a 5-HT y la respuesta a los agonistas serotoninérgicos varía de acuerdo con los cambios de secreción de las hormonas gonadales. Los efectos de las hormonas gonadales son regulados por 5-HT. Ciertas conductas como la agresión y la reproducción, son moduladas tanto por 5-HT como por las hormonas gonadales. Adicionalmente, se ha demostrado que los estrógenos administrados de manera exógena modulan la transcripción de diferentes subtipos de receptores 5-HT. Así, los efectos de los principales neuroesteroides en la conducta son múltiples, con algunas acciones directas y otras que se establecen por la interacción con otros neurotransmisores, particularmente la 5-HT. En el cuadro 3-5 se encuentran resumidas las acciones de los neuroesteroides.

CONCLUSIÓN

El Papiro de Ebers (1600 a.C.) constituye el primer reporte de que las enfermedades tienen un origen natural y que no son el producto de demonios o alguna otra influencia extrahumana. Asimismo, el empleo de sustancias naturales con propósitos claros de alterar el proceso de pensamiento data de miles de años, tal es el caso del hashish en Asia y del teonanácatl, el hongo mágico empleado en Mesoamérica. Lo más interesante del caso es definir cómo estas experiencias han conducido al conocimiento de los mensajeros químicos implicados en la conducta y la forma de modificarlos funcionalmente. Lo primero ha dado origen al conocimiento del sustrato de las emociones y de la motivación, en tanto que lo segundo ha propiciado procedimientos que permiten controlar la mayor parte de las alteraciones del conglomerado de enfermedades que en un tiempo fueron conocidas simplemente como "locura".

En síntesis, el estudio de las acciones de diversos compuestos sobre la química cerebral y sus repercusiones conductuales es una herramienta que hace posible la comprensión de los procesos sinápticos involucrados en determinadas pautas del comportamiento; mientras que, la aplicación de estos conocimientos a la terapéutica, permite elaborar procedimientos cada vez más eficaces e inoocuos para el control de las alteraciones de la conducta que ponen en peligro al individuo y a su entorno.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Bahena-Trujillo, R., Flores, G., Arias-Montaña, J. A. (2000)** Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Revista Biomédica*, 11: 39-60.
- Buhot, M. C. (1997)** Serotonin receptors in cognitive behaviors. *Current opinion in Neurobiology*, 7: 243-254.
- Connor, T. J., Kelliher, P., Harkin, A., Kelly, J. P., Leonard, B. E. (1999)** Reboxetine attenuates forced swim test-induced behavioral and neurochemical alterations in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 379: 125-133.

- Contreras, C. M., Molina, M., Saavedra, M., Martínez-Mota, L. (2000) Lateral septal firing rate increases during proestrus-estrus in the rat. *Physiology and Behavior*, 68: 279-284.
- Di Chiara, G. (1995) Psychobiology of the role of dopamine in drug-abuse and addiction. *Neuroscience Research Communications*, 17: 133-143.
- Emilien, G., Maloteaux, J. M., Geurts, M., Hoogenberg, K., Cragg, M. (1999) Dopamine receptors-physiological understanding to therapeutic intervention potential. *Pharmacology and Therapeutics*, 84:133-156.
- Fillenz, M. (1990) *Noradrenergic neurons*. New York: Cambridge University Press.
- Frazer, A. (2000) Norepinephrine involvement in antidepressant action. *Journal of Clinical Psychiatry*, 61 (Suppl 10): 25-30.
- Insel, P. A. (1996) Adrenergic receptors-evolving concepts and clinical implications. *New England Journal of Medicine*, 334: 580-585.
- Jakab, R. L., Horvath, T. L., Leranth, C., Harada, N., Naftolin, F. (1993) Aromatase immunoreactivity in the rat brain gonadectomy-sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive "limbic ring" of the lateral septal-bed nucleus-amygdala complex. *Journal of Steroid. Biochemistry and Molecular Biology*, 44: 481-498.
- Legg, C. R., Booth, D. A. (1994) *Appetite, neural and behavioral bases*. Oxford: Oxford University Press.
- Lucki, I. (1998) The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biological Psychiatry*, 44: 151-162.
- Majewska, M. D. (1992) Neurosteroids: endogenous bimodal modulators of the GABAA receptor. Mechanism of action and physiological significance. *Progress in Neurobiology*, 38: 379-395.
- Mason, S. T. (1984) *Catecholamines and behaviour*. Oxford: Cambridge University Press.
- McEwen, B. S., Parsons, B. (1982) Gonadal steroid action on the brain: neurochemistry and neuropharmacology. *Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology*, 22: 555-598.
- McEwen, B. S. (1991) Non genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *Trends in Pharmacological Sciences*, 12: 141-147.
- Mensah-Nyagan, A. G., Do-Rego, J. L., Beaujean, D., Luu-The, V., Pelletier, G., Vaudry, H. (1999) Neurosteroids: expression of steroidogenic enzymes and regulation of steroid biosynthesis in the central nervous system. *Pharmacological Review*, 51(1):63-81.
- Müller, E. E., Nisticò, G. (1989) *Brain Messengers and the Pituitary*. United States of America: Academic Press.
- Palacios, J. M., Mengod, G., Hoyer, D. (1993) Brain Serotonin receptor subtypes: radioligand binding assays, second messengers, ligand autoradiography, and in situ hybridization histochemistry. En: Conn P. M. (ed.) *Receptors: molecular biology, receptor subclasses, localization, and ligand design*. Methods in Neurosciences, Vol. 12, San Diego, CA: Academic Press, INC., 238-262.
- Pearlstein, T. B. (1995) Hormones and depression: what are the factors about the premenstrual syndrome, menopause, and hormone replacement therapy? *American Journal of Obstetrics. Gynecology*, 173: 646-653.
- Rampin, O. (1999) Pharmacology of alpha-adrenoceptors in male sexual function. *European Urology*, 36 (Suppl 1):103-106.
- Rodríguez-Landa, J. F., Contreras, C. M. (2000) Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Archivos de Neurociencias (Méx)*, 5: 74-83.
- Rupprecht, R. (1997) The neuropsychopharmacological potential of the neuroactive steroids. *Journal of Psychiatry Research*, 31: 297-314.
- Schmidt, A. W., Peroutka, S. J. (1989) 5-Hydroxytryptamine receptor families. *FASEB J.* 3:2242-2249.
- Wilson, C., Nomikos, G. G., Collu, M., Fibiger, H. C. (1995) Dopaminergic correlates of motivated behavior: importance of drive. *Journal of Neuroscience*, 15: 5169-5178.

APÉNDICE B

Gutiérrez-García AG, CM Contreras. (2000). El comportamiento sumiso: una estrategia conductual defensiva en los animales y en el humano. *Psicología y Salud* 10 (2): 201-213.

El comportamiento sumiso: una estrategia conductual defensiva en los animales y en el humano

Submissive behavior: A behavioral defensive strategic in human and animals

Ana G. Gutiérrez García¹

Carlos M. Contreras¹

RESUMEN

La depresión es un desorden complejo, frecuente e invalidante que afecta a millones de personas en todo el mundo. Se trata de una enfermedad severa que tiene un fuerte impacto en la salud pública. Sin embargo, el estudio de la fisiopatología de la depresión es limitado dado que la manipulación experimental de un paciente deprimido reviste dificultades de tipo ético. Por ello, se hace necesario utilizar otras alternativas, en donde figuran las aproximaciones a través de modelos experimentales en animales de laboratorio. Por analogía con el humano, un buen modelo animal debe producir el cese del esfuerzo por la sobrevivencia evaluada de varias formas, y este cambio conductual se debe revertir por los tratamientos antidepresivos cuya potencia ya es conocida. No obstante, no todos los modelos utilizan estímulos o condiciones semejantes a las que inducen el estado depresivo en el humano, por lo que se ha planteado la necesidad de diseñar modelos que semejen las condiciones sociales en las que viven los sujetos vulnerables. En esta revisión se abordan las características del modelo de estrés social por derrota y su posible analogía con algunos comportamientos sumisos/defensivos observados en el humano. Este modelo implica el estudio de las respuestas a las interacciones sociales de conflicto, que en términos etológicos se definen principalmente en dos tipos de comportamiento: ofensivo y defensivo. En los animales, la derrota social constituye un estresor natural que induce una respuesta sumisa/defensiva al estrés y que puede ocasionar cambios conductuales, endocrinos y neuroquímicos en el largo plazo que remedan el cuadro depresivo de tipo reactivo en el humano.

Palabras clave: Ansiedad; Defensa; Depresión; Desesperanza; Estrés social; Sumisión.

SUMMARY

Depression is a complex, frequent and invalidating disorder, which affects millions of people around the world. It is a severe illness that seriously affects public health. However, the physiopathological study of depression is limited to a certain extent, since experimental manipulation of a depressed patient involves difficulties of an ethical nature. For that reason, it is necessary to use other alternatives based on approximations obtained through experimental animal models in the laboratory. By

¹ Laboratorio de Neurofarmacología del Instituto de Neuroetología de la Universidad Veracruzana e Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 320, 91000 Xalapa, Veracruz, México, tel. (28)12-57-46, E-mail: emc@bugs.invest.uv.mx. Los autores agradecen a Irene Marquina por revisar el resumen en el idioma inglés. Durante el desarrollo del presente trabajo, el primer autor recibió estudios de posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con registro 150023. Además, recibió un apoyo parcial del Becas Nacionales para Estudios de Posgrado de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México. Artículo recibido en agosto de 2000 y aceptado el 7 de noviembre de 2000.

analogy with human being, a good animal model should cease its efforts to survive under certain conditions. This behavioral change can be evaluated in different forms and should be reverted by antidepressant treatments whose clinical potency is already known. Nevertheless, not all the models use stimuli or conditions similar to those inducing the depressive state in humans; therefore, the need for designing models that resemble social conditions in which vulnerable individuals live has been outlined. This review is aimed to the characteristics of the model of social stress by defeat and its possible analogy with some submissive/defensive behaviors observed in humans. This model implies the study of the responses to social interactions in conflictive situations, which in ethological terms are mainly defined within two types of behavior: offensive and defensive. In animals, the social defeat constitutes a natural stressor which induces a submissive/defensive response to stress and may cause long-term behavioral, endocrine and neurochemical changes, imitating the reactive type depression often observed in humans.

Key words: *Anxiety; Defensiveness; Depression; Despair; Social stress; Submission.*

INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno emocional que se presenta en un alto porcentaje de la población mundial; así, constituye una enfermedad de importancia por su fuerte impacto sobre la salud pública (Yadid, Nakash, Deri y cols., 2000). Algunos reportes estadísticos muestran que 17% de la población padece depresión mayor, y cerca del 35% algún desorden afectivo, incluidas la distimia, la depresión menor o la depresión recurrente (Angst, 1995) y conlleva como problema fundamental la posibilidad del suicidio (Pelkonen, Marttunen, Oulkinen y cols., 1996). La depresión es una patología clasificada por el DSM-IV (American Psychiatric Association, 1994) como un trastorno del estado de ánimo y se caracteriza por la disminución del talante y la

dificultad o incapacidad para disfrutar de las situaciones o eventos que habitualmente le provocaban alegría o gozo al paciente, con disminución o pérdida del interés hacia sí mismo y hacia la vida. La depresión se caracteriza entonces por síntomas afectivos (tristeza, anhedonia, irritabilidad), síntomas cognitivos (dificultad para concentrarse, pesimismo, ideas de minusvalía, culpa e indecisión) y síntomas psicofisiológicos (trastornos del sueño y del apetito, disminución de la energía en general y del deseo sexual, entre otros).

Se reconoce que para el estudio de los desórdenes psiquiátricos, origen y tratamiento, el humano es el sujeto de estudio adecuado, pero debido a factores éticos que impiden el uso de técnicas invasivas, se han tenido que emplear animales de laboratorio para llevar a cabo tales investigaciones. Por ejemplo, actualmente existe un gran avance en el desarrollo de los modelos animales para el estudio experimental de la depresión, así como para la identificación de la potencia y eficacia de los tratamientos antidepressivos (Yamada y Takahashi, 1991). La contribución de los modelos animales consiste en considerar que la exposición a estímulos estresantes diversos conduce a un estado de desesperanza en los animales (Porsolt, Lenègre y McArthur, 1991). Las terapias farmacológicas que son clínicamente eficaces en el tratamiento de la depresión, tales como los tricíclicos, los inhibidores de la monoaminoxidasa, los antidepressivos atípicos y el choque electroconvulsivo, también resultan eficaces para revertir los déficits conductuales inducidos por los diferentes estímulos utilizados en estos modelos animales (Yadid y cols., 2000).

Por medio del modelo de estrés social por derrota —un modelo para el estudio experimental de la depresión—, se ha podido determinar que el estrés social puede ser un factor patogénico importante en el desarrollo de diversos cambios conductuales observados en situaciones de estrés prolongado. Cuando los animales viven en grupo, sufren una serie de cambios fisiológicos y conductuales que son consecuencia de las contingencias a que se enfrentan, tales como el hacinamiento, el aislamiento social o los cambios en las relaciones jerárquicas. Los animales que ocu-

pan el status de subordinados dentro del grupo remedan en mucho los cuadros conductuales y fisiológicos inducidos por los estímulos estresantes que se aplican bajo diversas situaciones experimentales en los diferentes modelos diseñados para el estudio de la depresión (Kudryavtseva, Bakshtanovskaya y Koryakina, 1991). La ventaja del estudio conductual en pares o grupos consiste en que se utiliza un estímulo estresor natural al que muchas especies se tienen que enfrentar cuando se encuentran dentro de un grupo social (Blanchard, Sakai, McEwen y Blanchard, 1993).

Las relaciones dominante-subordinado se han considerado como formas estables y permanentes de organización social de muchas especies (Liebenauer y Slotnick, 1996), y en un contexto natural la conducta de subordinación tiene como función desviar la agresividad de un animal dominante y evitar así la confrontación en la que uno de los participantes podría resultar lesionado (Hinde, 1977). Sin embargo, si esta situación se prolonga mucho tiempo, las conductas de sumisión pasan a ser actitudes de desesperanza caracterizadas por la falta de reactividad a la estimulación y culminan en un estado de abatimiento generalizado en que se abandona todo intento de sobrevivencia (Kudryavtseva y cols., 1991; Albonetti y Farabollini, 1994).

En el cuadro clínico de los pacientes deprimidos ocurre algo muy similar. Diversas investigaciones han ilustrado que en pacientes depresivos ocurrieron acontecimientos estresantes en los seis meses previos al inicio de la depresión de forma más significativa que en la población general o en otros grupos de pacientes psiquiátricos (Angst, 1995). En el humano, cuando las estrategias han fallado para escapar de una situación estresante, se despliegan ideas de fracaso e impotencia caracterizadas por un estado pasivo ante las contingencias cotidianas, y aislamiento e indiferencia hacia el entorno e incluso hacia sí mismo (Uriarte, 1992; Price, Sloman, Gardner y cols., 1994).

En consecuencia, el objetivo del presente reporte consiste en ilustrar la forma en que las relaciones dominante-subordinado parecen constituir un modelo apropiado para el análisis de los cambios conductuales, endocrinos y neuroquími-

cos asociados con el estrés psicosocial crónico, el cual puede desencadenar a largo plazo alteraciones en el talante debido a eventos ambientales adversos.

Algunas generalidades de los modelos animales para el estudio experimental de la depresión

Los modelos de depresión en animales han sido utilizados dentro de dos contextos: para medir la potencia y acción de los tratamientos antidepresivos y para investigar las bases fisiopatológicas de la depresión (Willner, Muscat y Papp, 1992). En general, un modelo animal representa un intento por parte del investigador para imitar ciertos aspectos de una condición clínica determinada. Estos modelos deben semejar la condición clínica a través de un componente que sea mensurable; por lo general, un componente motor del que se infiere un estado motivacional que es enriquecido con la evaluación de otras variables bioquímicas o electrofisiológicas, estableciendo sistemas de prueba que permitan detectar, por ejemplo, la acción terapéutica de fármacos en animales que se suponen "abatidos" y compararlos con sus controles. De esta manera, el investigador suele obtener, a partir de estos modelos, diversos indicadores que se toman como signos de depresión en el animal de laboratorio: falta de aseo, inmovilidad, pérdida del interés por la actividad sexual, disminución de la tasa de autoestimulación intracraneal y pérdida de la conducta agresiva competitiva u ofensiva, entre otras alteraciones (Richardson, 1991). En resumen, un modelo animal debe cumplir por lo menos con los siguientes criterios de validación definidos por McKinney y Buney (véase Yamada y Takahashi, 1991): similitud en las condiciones inductoras, así como en el estado conductual inducido en el modelo y el humano y en los mecanismos neurobiológicos implicados, y también de modo imprescindible el que las técnicas de tratamiento clínicamente eficaces reduzcan los déficits.

A la fecha hay numerosos modelos conductuales para el estudio de la depresión, pero no

todos ellos reúnen los criterios de validación necesarios; sin embargo, dada la complejidad etiológica de la depresión, es imposible suponer que alguno de ellos abarque en su totalidad la sintomatología tan compleja que abarca el trastorno depresivo mayor. Es por ello que los modelos animales de depresión han sido diseñados principalmente con el objetivo de evaluar el potencial antidepressivo de diversos fármacos (Porsolt y cols., 1991).

Entre algunos de los modelos animales para el estudio experimental de la depresión se cuentan aquellos que involucran situaciones de estrés inevitable, como las pruebas de desesperanza aprendida (Seligman y Maier, 1967), el estrés crónico impredecible (Katz, 1981; Willner y cols., 1992), la prueba de nado forzado (Porsolt, Pichon y Jalfre, 1977), la separación de monos madre-infante (Harlow y Suomi, 1971) o la suspensión por el rabo en el ratón (Steru, Chermat, Thierry y Simon, 1985), entre otros. En estos modelos, los animales despliegan conductas tales como inmovilidad o pasividad, que sugieren un estado de desesperanza ante situaciones apremiantes sobre las cuales se carece de control; empero, el esquema conductual de abatimiento se revierte mediante la administración de tratamientos antidepressivos clínicamente eficaces (Seligman y Maier, 1967; Porsolt y cols., 1977; Willner, Muscat, Papp y Sampson, 1991). Otros modelos involucran procedimientos quirúrgicos tales como la ablación del bulbo olfatorio (Leonard, 1984), que provoca en los animales un deterioro caracterizado por cambios bioquímicos, conductuales y motores que se revierten cuando se administran antidepressivos durante un tiempo prolongado a los sujetos (Richardson, 1991). Se hallan asimismo aquellos que manipulan genéticamente cepas de ratas (Overstreet, 1993) con la finalidad de remedar las alteraciones conductuales y fisiopatológicas del cuadro clínico observado en la depresión endógena.

De manera general, la gran mayoría de los modelos animales para el estudio experimental de la depresión y los más utilizados en la actualidad para evaluar el potencial de diversos fármacos antidepressivos remedan la depresión exógena o reactiva en la medida en que son los factores

ambientales los que desencadenan los cambios conductuales y fisiopatológicos sugerentes de depresión; incluso los proponentes de la teoría del aprendizaje de la depresión han enunciado que este síndrome se presenta principalmente como consecuencia de situaciones adversas carentes de solución (Seligman, 1975), colocando a tal tipo de estrés como uno de los factores más importantes que originan el cuadro depresivo (Anisman y Zacharko, 1992). Empero, la mayoría de estos modelos animales de depresión no cumplen con el criterio de que las condiciones que inducen el estado conductual anormal de los animales, deben ser semejantes a aquellas desencadenantes de la psicopatología humana, pues utilizan estresores que conducirán a esquemas conductuales semejantes a la depresión, pero que son ajenos a la cotidianidad del animal de experimentación, y en todos los casos se produce un cambio conductual ligado a una manipulación experimental extraña (suspensión por el rabo, nado, choques eléctricos y muchos más).

Al comparar los diversos modelos animales hasta hoy diseñados, y tomando en cuenta los criterios de validación que reúnen, cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas que representan para el investigador distintas alternativas para estudiar las bases fisiopatológicas del síndrome depresivo (Ferreira, Bonilla, Becerril y Velásquez, 1998). Así, se sugiere el uso de estímulos que, siendo desencadenantes de desesperanza, ocurran de manera más natural y cotidiana en la vida de los individuos vulnerables para estudiar las estrategias conductuales que se emiten en una interacción social de conflicto. Los hallazgos encontrados en la investigación básica han permitido proponer que el estrés psicosocial constituye uno de los factores que predisponen al individuo a desarrollar trastornos del estado de ánimo.

Estudio del comportamiento sumiso/defensivo como un modelo animal para el estudio experimental de la depresión

Todos los individuos estamos expuestos a peligros o daños durante el curso de nuestras vidas (Dixon, 1998). En los animales que establecen

colonias o que viven en grupo, dichos peligros forman parte de su vida cotidiana; en un proceso sumamente conflictivo, cada uno de los integrantes tendrá una posición dominante o subordinada con respecto a los demás. Cuando el proceso ha concluido, los subordinados se retiran o adoptan una postura sumisa al acercarse el dominante, y rara vez hay intentos de rebelión (Hinde, 1977). Blanchard, Blanchard y Flannelly (1985) han propuesto que estas relaciones jerárquicas constituyen un factor potencialmente estresante en los animales subordinados, ya que muchos de los individuos que ocupan el status de subordinados dentro de la jerarquía social tienden a mostrar reacciones de miedo mucho más intensas que los dominantes. La dominancia entre individuos en grupos sociales es típicamente definida en términos de comportamientos agonísticos en los machos dominantes (ataques ofensivos o agresivos) y un comportamiento defensivo emitido por el subordinado. En la ratas, la diferenciación entre estas dos clases de comportamiento agresivo es clara y consistente (Blanchard y cols., 1993). El patrón conductual de la rata dominante consiste en la aproximación espontánea hacia su oponente en un comportamiento llamado "ofensivo", que incluye el ataque lateral, la persecución y finalmente el ataque dirigido hacia el dorso del intruso o subordinado mientras yace sobre éste (Blanchard y Blanchard, 1991; Blanchard y cols., 1993); en cambio, el comportamiento defensivo del subordinado o intruso incluye la huida, la retirada (la cual tiende a desencadenar la persecución por parte del dominante), el congelamiento y el intento por mantener la posición supina. El objetivo de la agresión defensiva no es el placer de destruir sino conservar la vida. Esta asimetría de comportamientos agonísticos entre machos se desarrolla típicamente durante los primeros días de agrupación, y una vez establecida la jerarquía permanece estable durante el resto de la vida del grupo; luego entonces, el comportamiento agresivo es un componente interaccional específico entre un agresor y su víctima (Blanchard, Flannelly y Blanchard, 1988).

Así, la derrota social entre las ratas por un macho agresivo de su misma especie constituye

un estresor natural que induce la respuesta al estrés y una activación de los sistemas cardiovascular y neuroendocrino, observándose un incremento de los niveles de corticosterona en el plasma en los animales subordinados (Ischikawa, Hara, Ohdo y Ogawa, 1992). Asimismo, se ha observado que las confrontaciones sociales prolongadas constituyen un estresor psicosocial potencial para provocar cambios persistentes en el sistema inmunológico, a juzgar por el decremento en el número de leucocitos y linfocitos de los ratones sometidos a derrotas prolongadas (Stefanski, 1998). Por otro lado, cuando los machos se someten a una confrontación social, el individuo derrotado aumenta el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado (Hilakivi-Clarke, 1992; Meerlo, Overkamp, Daan Van den Hoofdakker y Koolhas, 1996), lo cual es revertido cuando se administra el antidepresivo tricíclico imipramina durante dos semanas en dosis de 10 mg/kg (Kudryavtseva y cols., 1991). Además, los ataques prolongados por parte del macho dominante incrementan el número de úlceras gástricas en las ratas subordinadas (Kudryavtseva y cols., 1991), por lo que la duración de la vida de una rata subordinada es menor en promedio que la de la dominante. Generalmente, las ratas dominantes viven en promedio setecientos días o más, mientras que un subordinado vive aproximadamente quinientos (Blanchard y cols., 1988) y consume más alcohol que las dominantes (Blanchard, Hori y Blanchard, 1987); por ello, es posible que estos animales asuman el comportamiento sumiso/defensivo como una estrategia ante situaciones en las que ya no tienen otra posibilidad, y desarrollan durante su vida en grupo un estado de desesperanza que en el largo plazo provoca un estado depresivo que conduce al abandono de todo intento de sobrevivencia. Tal parece entonces que los estresores sociales caracterizados por las relaciones que se establecen con los demás miembros de un grupo pueden afectar diferencialmente varios aspectos conductuales y fisiológicos dependiendo de la magnitud y curso temporal de los cambios inducidos.

Cambios en los sistemas de neurotransmisión de animales subordinados o sometidos a derrotas constantes

El animal sometido a derrotas constantes parece ser sensible a la naturaleza del estresor en términos de su duración o repetición, lo que evidentemente altera el funcionamiento de varios sistemas de neurotransmisión, como el serotoninérgico (Flügge, 1995). En las musarañas, la subordinación por un periodo de dos a 28 días ocasiona una disminución significativa en la densidad del receptor 5-HT_{1A} en estructuras del sistema límbico, tales como el hipocampo, la corteza cingulada y la corteza prefrontal (Chalmers, Kwak, Mansour y cols., 1993; Flügge, 1995). Estos hallazgos son consistentes con otros estudios en los que se han observado cambios en el sistema serotoninérgico inducidos por otros estresores. Por ejemplo, el estrés por miedo condicionado producido por la exposición a un estímulo ambiental asociado con un choque eléctrico en las patas incrementa el metabolismo de la serotonina en la corteza prefrontal medial, en el núcleo accumbens y en la amígdala (Inoue, Tsuchiya y Koyama, 1994).

Durante el estrés por derrota ocurre un incremento en los niveles de corticosteroides y del factor liberador de corticotrofina (Ishikawa y cols., 1992; Blanchard y cols., 1993). Los corticosteroides modifican la actividad del sistema serotoninérgico —particularmente del receptor 5HT_{1A}—, en el que se origina una disminución en el número de receptores consecutiva a las concentraciones elevadas de manera crónica de corticosteroides; por lo tanto, la respuesta celular a la activación de los receptores 5-HT_{1A} está atenuada (Fuller, 1990). En este sentido, en los monos subordinados se ha observado el decremento de la sensibilidad a agonistas serotoninérgicos del receptor 5-HT_{1A} (Raleigh, Brammer, McGuire y Yuwiler, 1985). Asimismo, Blanchard y cols. (1993) también han encontrado diferencias en la sensibilidad de los receptores 5-HT_{1A} en el núcleo de la estría terminal y en el área preóptica de ratones subordinados, en comparación con animales dominantes o controles. Estos hallazgos resultan de gran interés dado que la serotonina

(5-HT) es un neurotransmisor que se relaciona con los procesos emocionales. De manera particular, el receptor serotoninérgico 5-HT_{1A} participa en las acciones de los antidepresivos (Schreiber y De Vry, 1993) y, por tanto, en la fisiopatología de la depresión (Owens y Nemeroff, 1994).

Sin embargo, en analogía con la depresión, no sólo el sistema serotoninérgico parece estar involucrado en los cambios conductuales y fisiológicos observados en los animales subordinados.

El sistema dopaminérgico se encuentra implicado en la expresión de comportamientos sumisos en animales de laboratorio. Por ejemplo, la administración de anfetaminas y de cocaína —dos agonistas dopaminérgicos— decrementa el comportamiento social dependiente, así como aquellas conductas relacionadas con la dominancia, e induce actitudes sumisas y defensivas en el ratón que es confrontado con un residente aislado (Puglisi-Allegra y Cabid, 1988). También se ha determinado que el estrés social crónico reduce la densidad de los transportadores dopaminérgicos en las estructuras cerebrales relacionadas con la conducta motora, sugiriéndose que la reducción de la actividad locomotora observada en los animales sometidos a derrotas constantes pudiera estar relacionado con la disminución en el número y/o afinidad (*down-regulation*) de los sitios de unión de la dopamina en estructuras del cuerpo estriado (Isovich, Mijnter, Flügge y Fuchs, 2000). En adición, conviene mencionar que uno de los síntomas más comúnmente observados en pacientes con depresión melancólica es el retardo de la actividad psicomotora (Kapur y Mann, 1992). Todo lo anterior en conjunto sugiere que los animales sumisos desarrollan alteraciones en los sistemas de neurotransmisión que de modo importante han sido implicados en la patofisiología del trastorno depresivo.

Por otro lado, parece existir una relación entre los estados afectivos y las concentraciones de las hormonas gonadales, particularmente de la testosterona (McCaul, Gladue y Joppa, 1992). Por ejemplo, el estrés social prolongado en machos resulta en la atrofia testicular y, por consecuencia, en la reducción de la biosíntesis de testosterona en animales subordinados (von Holst, 1977; Fischer, Heinzeller y Raab, 1985),

mientras que los machos vencedores en una confrontación cuadruplican sus niveles de testosterona circulante dentro de las primeras 24 horas posteriores a la victoria (Bernstein, Gordon y Rose, 1974). Recientemente, Isovich y cols. (2000) encontraron que los niveles de testosterona se encuentran reducidos hasta un 10% con respecto a los niveles de control en los animales subordinados, lo cual confirma los hallazgos de investigaciones previas, que indican que la función testicular en los animales derrotados se encuentra disminuida. En concordancia con estos estudios, se ha encontrado en la clínica que las concentraciones de testosterona en los jóvenes disminuyen después de ser derrotados en encuentros deportivos (Mazur y Lamb, 1980); además, se ha hallado que en los pacientes deprimidos ocurre una disminución de los niveles de testosterona en el plasma (McCaul y cols., 1992).

Así, el modelo de estrés social por derrota induce cambios neurofisiológicos importantes en los animales experimentales, lo que ha permitido encaminar estos hallazgos a lograr un mejor entendimiento de las bases fisiopatológicas del trastorno depresivo originado por relaciones sociales conflictivas (ver Cuadro 1).

Depresión: una estrategia de comportamiento sumiso/defensivo

Recientemente, la depresión ha sido referida como una estrategia de sumisión ante situaciones en las cuales el individuo carece de soluciones (Price y cols., 1994); es decir, cuando los pacientes deprimidos perciben que ya no tienen control sobre situaciones estresantes, dejan de luchar, sus expectativas son de incontrolabilidad y generan por consiguiente miedo y ansiedad. La ansiedad y la autoincapacidad generan a su vez pasividad e inhibición y el individuo reduce al mínimo su interacción con el ambiente y deja de actuar porque carece de incentivos y motivaciones (Seligman, 1975).

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los animales dominantes en un entorno natural despliega mucho más gesticulaciones y

movimientos de alarde de amenaza o luchas ritualizadas que ataques reales. Las conductas de alarde son útiles para reforzar las jerarquías sociales en grupos de animales o para advertir a los subordinados que se alejen del territorio del animal dominante. Todos los movimientos de amenaza simbolizan una agresividad potencial por parte de los dominantes, y los subordinados tienen una oportunidad amplia de aprender su significado (Hinde, 1977). Sin embargo, si tal situación de derrota constante se prolonga, estos últimos despliegan durante los primeros días posturas sumisas, para posteriormente adoptar posturas de desesperanza, caracterizadas por una gradual disminución de reactividad ante la estimulación o hacia los movimientos del agresor, llegando a un abatimiento generalizado, al grado de permanecer indiferentes e inmóviles en una de las esquinas de la caja de prueba y con la nariz enterrada en el aserrín (Kudryavtseva y cols., 1991).

En el cuadro clínico de la depresión ocurre algo muy semejante: el humano despliega un estado de ánimo deteriorado cuando ve que sus estrategias de sumisión han fallado para escapar de una situación estresante (Dixon, 1998). El paciente deprimido asume ideas exageradas de inutilidad, baja autoestima y culpa; piensa que nada merece en la vida; exagera sus fracasos y se reprocha a sí mismo hasta sus más pequeños errores; se siente incapaz de modificar su situación; tiene una sensación de derrota e impotencia; generalmente, muestra pobre o nula participación en grupo; muestra abatimiento del deseo y la habilidad para las actividades cotidianas, sociales, familiares, laborales, escolares y recreativas, así como pasividad en todas las áreas de su vida y aislamiento, lo cual se acompaña de una expresión facial y corporal de tristeza extrema (Uriarte, 1992). En las personas depresivas se detectan sentimientos de frustración por no alcanzar las metas deseadas, y suelen ser altamente sensibles a la crítica y a la autocrítica. Suelen juzgarse como despreciables, con poco valor, deficientes, inadecuados e inútiles. Todo ello modifica en efecto la apreciación que los demás pueden tener hacia ellos en una sociedad

Cuadro 1. Analogía entre el modelo de estrés social por derrota y la depresión en el humano.

<i>DEPRESIÓN REACTIVA (EN HUMANOS)</i>	<i>DESESPERANZA EN ANIMALES</i>
ALTERACIONES CONDUCTUALES	
1. Confrontación defensiva por retirada ante problemas carentes de solución (adversario).	1. Despliegue de conductas sumisas/defensivas para confrontar al macho dominante.
2. Expectativas negativas con respecto al manejo de los eventos adversos y sentimientos de derrota e impotencia.	2. Pobre reactividad a la estimulación ambiental.
3. Abatimiento motor.	3. Decremento de la locomoción y del comportamiento social.
4. Anorexia y disturbios en la función gastrointestinal.	4. Pérdida de peso e incremento de erosiones y hemorragias gástricas en comparación con los animales control.
5. Falta de motivación para actuar, pérdida de incentivos para afrontar los problemas.	5. Incremento del tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado.
6. La administración de tratamientos antidepresivos disminuye los síntomas depresivos.	6. La administración de antidepresivos revierte el efecto provocado por el estrés social en la prueba de nado forzado.
ALTERACIONES FISIOPATOLÓGICAS	
7. Incremento de corticosterona en plasma.	7. Incremento de corticosterona en plasma.
8. Niveles reducidos de serotonina y su metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético, en el líquido cefalorraquídeo de pacientes deprimidos y suicidas.	8. Disminución de la densidad de receptores 5-HT _{1A} en estructuras del sistema límbico y otras alteraciones en el sistema serotoninérgico.
9. Anhedonia y pérdida del interés o motivación por las actividades cotidianas.	9. Decremento de los niveles de dopamina en estructuras involucradas en la motivación y en los estados hedónicos.
ETIOLOGÍA	
Incapacidad para controlar los eventos adversos de la vida y las interacciones sociales conflictivas (ejemplos: pérdida de un ser querido o separación, enfermedades físicas y pérdida del trabajo).	Estrés incontrolable.

altamente competitiva como la nuestra, lo que los coloca en una posición subordinada o de "bajo rango". Lo anterior origina a su vez que se alejen de los demás y de cualquier relación interpersonal, lo cual los pone en desventaja con los demás, por lo que quizá muchos de ellos intentan el suicidio. Los motivos para el suicidio pueden incluir el deseo de rendirse ante lo que es percibido como un obstáculo insalvable o como un intenso deseo de acabar con un estado emocional enormemente doloroso que es percibido como interminable (véase American Psychiatric Association, 1994). Es importante hacer hincapié que no todas las personas responden de manera similar ante las situaciones adversas de la vida; sólo las más vulnerables piensan que su situación es incontrolable, y es entonces cuando caen en un estado de desesperanza.

El grupo de Dixon y Fish (1998) ha realizado estudios etológicos de pacientes deprimidos y observado actitudes que remedan en mucho a los comportamientos defensivos de animales sometidos al estrés social por parte de machos dominantes. Al respecto, es conveniente destacar que mientras los animales despliegan estrategias defensivas motoras que, por otra parte, es lo único que se puede evaluar con objetividad, en los humanos se tiene además el reporte verbal. Por ejemplo, cuando al ser humano le es imposible afrontar las exigencias del ambiente y siente la amenaza de un daño físico o moral, comienza a experimentar tensión y malestar, y, en lugar de afrontar el problema directamente, admite la derrota y deja de combatir (retirada). Para muchos pacientes con vulnerabilidad depresiva, al advertir que el problema (adversario o situación contingente) es más poderoso que ellos, o que es imposible cambiar realmente su personalidad o alterar la situación, la retirada es un ajuste en cierta medida positivo. Desisten, pues suponen que ya nada puede hacerse para cambiar la situación, por lo que la resignación es a veces la mejor manera de afrontarla. Sin embargo, el problema del paciente deprimido radica en que esta conducta de retirada puede generalizarse a la evitación de todas las situaciones parecidas. En tales casos, la confrontación por retirada se transforma en una evitación desadaptada (Dixon,

1998). Muchos de los pacientes depresivos con rasgos de personalidad defensiva desarrollan en el largo plazo sentimientos ambivalentes para expresar sus emociones, toda vez que tienden a utilizar de manera inadecuada mecanismos de defensa reprimiendo emociones negativas que muchas veces no expresan por miedo a las consecuencias sociales, al tiempo que se vuelven propensos a experimentar ansiedad y síntomas fisiológicos asociados (al'Absi, Bongard y Lovallo, 2000). Luego entonces, es evidente que el comportamiento de una persona puede verse alterado bajo determinadas circunstancias psicosociales, y estas alteraciones generan a su vez cambios conductuales concurrentes con alteraciones neuroquímicas importantes; por tanto, es posible que las relaciones sociales con otros individuos constituyan un estímulo potencial para desencadenar un cuadro depresivo de tipo reactivo.

CONCLUSIONES

El estudio de la depresión es particularmente relevante por su alta morbilidad y prevalencia; a pesar de ello, el acceso a un paciente o a un cerebro humano reviste dificultades de tipo ético para el estudio de la conducta. Esta limitación ha obligado a crear los modelos animales para el estudio experimental de la depresión, los cuales desempeñan un papel esencial ya que permiten obtener indicadores relativos de la actividad farmacológica de los antidepresivos, de los cambios en los diferentes sistemas de neurotransmisión y, por ende, de las posibles alteraciones neurobiológicas relacionadas con el cuadro depresivo, al tiempo que hacen posible el desarrollo de nuevos fármacos.

Resulta importante señalar que las observaciones recabadas en la investigación básica no pueden ser extrapoladas de forma directa a la situación clínica en modo alguno. Todos los modelos animales hasta hoy diseñados constituyen una herramienta fundamental y son una interfase crítica entre la investigación básica y la investigación clínica para tratar de entender los procesos fisiológicos que subyacen a la fisiopa-

tología del trastorno depresivo (Rodríguez y Contreras, 2000). No cabe duda de que las funciones de tipo emocional o cognoscitivo se correlacionan y emergen de la composición, metabolismo y/o bioquímica de la actividad cerebral. La propia naturaleza de esos aspectos cerebrales da origen a las funciones psicológicas y conductuales que no son fácilmente reductibles a niveles específicos de neurotransmisión o de ciertas regiones cerebrales; es más saludable suponer que tales aspectos son el resultado de una actividad armoniosa de amplias redes neuronales, donde actúan múltiples sistemas neuroquímicos, de cuyo estudio es posible aproximarse a las bases fisiopatológicas de las alteraciones conductuales, de entre las cuales la depresión es sólo una de ellas.

A este planteamiento teórico general puede añadirse el que las terapias psicológicas pueden tener un valor profiláctico o preventivo en cuanto a la aparición de una recaída y en cuanto a la forma como el paciente evalúa la intensidad o la importancia de su sintomatología una vez que se ha producido una recaída (Jorquera, 1990). Por ello, la psicoterapia deberá tener en cuenta los siguientes aspectos: *a)* no debe olvidarse la importancia que puede tener el tratamiento farmacológico para evitar el riesgo del suicidio; *b)* toda terapia psicológica debe coadyuvar de esta manera al tratamiento farmacológico, y

c) las terapias conductuales y cognitivas deberán utilizar técnicas y procedimientos encaminados a modificar aquellas conductas que modulan el comportamiento del paciente deprimido y que favorezcan la remisión de la depresión al mejorar los aspectos conductuales, cognitivos y de funcionamiento social de los pacientes.

En conclusión, las interacciones sociales son esenciales en la sobrevivencia de los humanos y de los animales. Muchos estudios han demostrado que la alteración de los procesos primarios de socialización genera comportamientos desadaptados, distrés y otras psicopatologías en individuos susceptibles. Es por lo anterior que el modelo de estrés social por derrota es una herramienta conductual útil no sólo para estudiar el discernimiento de drogas con actividad antidepresiva, sino también para estudiar las bases fisiopatológicas de la depresión, principalmente de aquella en la que es posible reconocer acontecimientos vitales estresantes como causa del síndrome, el cual puede presentarse en cualquier persona a lo largo de su vida. La derrota social que se establece en una interacción de conflicto puede ser utilizada como un estímulo depresor natural que induce una respuesta sumisa/defensiva al estrés y que puede ocasionar a largo plazo cambios conductuales, endocrinos y neuroquímicos que remedan y permiten el estudio experimental del cuadro depresivo de tipo reactivo en el humano.

REFERENCIAS

- al'Absi, M., Bongard, S. y Lovallo, W.R. (2000). Adrenocorticotropin responses to interpersonal stress: effects of overt anger expression style and defensiveness. *International Journal Psychophysiology*, 37: 257-265.
- Albonetti, M.E. y Farabollini, F. (1994). Social stress by repeated defeat: effects on social behavior and emotionality. *Behavioural Brain Research*, 62: 187-193.
- American Psychiatric Association (1994). *DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. (4th ed.). Washington: American Psychiatric Press: 345-359.
- Angst, J. (1995). The epidemiology of depressive disorders. *European Neuropsychopharmacology*, 5(suppl. 1): 95-98.
- Anisman, H. y Zacharko, R.M. (1992). Depression as a consequence of inadequate neurochemical adaptation in response to stressors. *British Journal of Psychiatry*, 160(15): 36-43.
- Bernstein, I.S., Gordon, T.P. y Rose, R.M. (1974). Aggression and social controls in rhesus monkey (*Macaca mulatta*) groups revealed in group formation studies. *Folia Primatologica*, 21(2): 81-107.
- Blanchard, D.C. y Blanchard, R.J. (1991). The colony model of aggression and defense. En D.A. Dewsbury (ed): *Contemporary issues in comparative psychology*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.: 410-430.
- Blanchard, R.J., Blanchard, D.C. y Flannelly, K.J. (1985). Social stress, mortality and aggression in colonies and burrowing habitats. *Behavioural Processes*, 11: 209-215.
- Blanchard, R.J., Flannelly, K.J. y Blanchard, D.C. (1988). Life span studies of dominance and aggression in established colonies of laboratory rats. *Physiology and Behavior*, 43: 1-7.
- Blanchard, R.J., Hori, K. y Blanchard, D.C. (1987). Social structure and ethanol consumption in the laboratory rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 28: 437-442.
- Blanchard, D.C., Sakai, R.R., McEwen, B.S. y Blanchard, R.J. (1993). Subordination stress: behavioral and neuroendocrine correlates. *Behavioural Brain Research*, 58: 113-121.
- Chalmers, D.T., Kwak, S.P., Mansour, H., Akil, J. y Watson, S.J. (1993). Corticosteroid regulates brain hippocampal 5HT_{1A} receptor mRNA expression. *Journal of Neuroscience*, 13(3): 914-923.
- Dixon, A.K. (1998). Ethological strategies for defense in animals and humans: their role in some psychiatric disorders. *British Journal of Medical Psychology*, 71: 417-445.
- Dixon, A.K. y Fisch, H.U. (1998). Animal models and ethological strategies for early drug-testing in humans. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23: 345-358.
- Ferreira N., A., Bonilla J., H., Becerril C., N. y Velásquez M., J. (1998). Modelos animales de depresión. En M. Martínez G. y J. Velásquez M. (Eds): *Bases neurobiológicas y ecológicas de la conducta*. México: UAT/UAM/UV/UNAM: 449-471.
- Fischer, H.D., Heinzeller, T. y Raab, A. (1985). Gonadal response to psychosocial stress in male tree shrews (*Tupaia balangeri*) morphology of testis, epididymis and prostate. *Andrology*, 17: 262-275.
- Flügge, G. (1995). Dynamics of central nervous 5-HT_{1A} receptors under psychosocial stress. *Journal Neuroscience*, 15(11): 7132-7140.
- Fuller, R.W. (1990). Serotonin receptors and neuroendocrine responses. *Neuropsychopharmacology*, 3(5/6): 495-502.
- Harlow, H.F. y Suomi, S.J. (1971). Production of depressive behaviours in young monkeys. *Journal of Autism and Child Schizophrenia*, 1: 246-255.
- Hilakivi-Clarke, L.A. (1992). Injection of vehicle is not a stressor in Porsolt's swim test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 42: 193-196.
- Hinde, R.A. (1977). *Bases biológicas de la conducta social humana*. México: Siglo XXI.
- Inoue, T., Tsuchiya, K. y Koyama, T. (1994). Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and physiological stress in the rat brain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49(4): 911-920.

- Ischikawa, M., Hara, Ch., Ohdo, S. y Ogawa, N. (1992). Plasma corticosterone response of rats with sociopsychological stress in the communication box. *Physiology and Behavior*, 52: 475-480.
- Isovich, E., Mijnter, J., Flügge, G. y Fuchs, E. (2000). Chronic psychosocial stress reduces the density of dopamine transporters. *European Journal of Neuroscience*, 12: 1071-1078.
- Jorquera, A. (1990). Terapias psicológicas. II. Tratamientos conductuales y cognitivos. En J. Vallejo y G. Ferrer (Eds.): *Trastornos afectivos: ansiedad y depresión*. Barcelona: Salvat, 431-446.
- Kapur, S. y Mann, J.J. (1992). Role of the dopaminergic system in depression. *Biological Psychiatry*, 32: 1-17.
- Katz, R.J. (1981). Animal model and human depressive disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 5: 231-246.
- Kudryavtseva, N.N., Bakshtanovskaya, I.V. y Koryakina, L.A. (1991). Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38: 315-320.
- Leonard, B.E. (1984). The olfactory bulbectomized rat as a model of depression. *Pol. Journal of Pharmacology and Pharmaceutical*, 36: 561-569.
- Liebenauer, L.L. y Slotnick, B.M. (1996). Social organization and aggression in a group of olfactory bulbectomized male mice. *Physiology and Behavior*, 60(2): 403-409.
- Mazur, A. y Lamb, T.A. (1980). Testosterone, status and mood in human males. *Hormones and Behavior*, 14: 236-246.
- McCaul, K.D., Gladue, B.A. y Joppa, M. (1992). Winnig, losing, mood and testosterone. *Hormones and Behavior*, 267: 486-504.
- Meerlo, P., Overkamp, S., Daan Van den Hoofdakker, R.H. y Koolhaas, J.M. (1996). Changes on behavior and body weight following a single or double social defeat in rats. *Stress*, 1: 21-32.
- Overstreet, D.H. (1993). The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17: 51-68.
- Owens, M.J. y Nemeroff, C.B. (1994). Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clinical Chemistry*, 40(2): 288-295.
- Pelkonen, M., Marttunen, M., Pulkkinen, E., Koivisto, A.M., Laippala, P. y Aro, H. (1996). Excess mortality among former adolescent male out-patients. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 94: 60-66.
- Porsolt, R.D., Lenègre, A. y McArthur, R.A. (1991). Pharmacological models of depression. En B. Olivier, J. Mos y J.L. Slangen (Eds): *Animal models in Psychopharmacology*. Boston, Germany: Birkhäuser Verlag, 137-159.
- Porsolt, R.D., Pichon, M.L. y Jalfre, M. (1977). Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature*, 266: 730-732.
- Price, J., Sloman, L., Gardner, R., Gilbert, P. y Rhode, P. (1994). The social-competition hypothesis of depression. *British Journal of Psychiatry*, 164: 309-315.
- Puglisi-Allegra, S. y Cabid, S. (1988). Pharmacological evidence for a role of D2 dopamine receptors in the defensive behavior of the mouse. *Behavioral and Neural Biology*, 50: 98-111.
- Raleigh, M.J., Brammer, G.L., McGuire, M.T. y Yuwiler, A. (1985). Dominant social status facilitates the behavioral effects of serotonergic agonists. *Brain Research*, 348: 274-282.
- Richardson, J.S. (1991). Animal models of depression reflect changing views on the essence and etiology of depressive disorders in humans. *Progress Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 15: 199-204.
- Rodríguez L., J.F. y Contreras, C.M. (2000). Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Archivos de Neurociencias*, 5(2): 74-83.
- Schreiber, R. y De Vry, J. (1993). 5-HT_{1A} receptor ligands in animal models of anxiety, impulsivity and depression: multiple mechanism of actions? *Progress Neuro-psychopharmacology Biological Psychiatry*, 17: 87-104.
- Seligman, M.E. (1975). *Helplessness on development, depression and death*. New York: Freeman.
- Seligman, M.E. y Maier, S.F. (1967). Failure to escape traumatic shock. *Journal of Experimental Psychiatry*, 122: 1-9.

- Stefanski, V. (1998). Social stress in loser rats: opposite immunological effects in submissive and subdominant males. *Physiology and Behavior*, 63(4): 605-613.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B. y Simon, P. (1985). The tail suspension test: A new method for screening antidepressant in mice. *Psychopharmacology*, 85: 367-370.
- Uriarte, V. (1992). *Psicopatología básica moderna*. México: Sianex.
- Von Holst, D. (1977). Social stress in tree shrews: problems, results, and goals. *Journal of Comparative Physiology*, 120: 71-86.
- Willner, P., Muscat, R. y Papp, M. (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: A realistic animal model of depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16: 525-534.
- Willner, P., Muscat, R., Papp, M. y Sampson, D. (1991). Dopamine, depression and anti-depressant drugs. En P. Willner, J. y Scheel-Krüger (Eds.): *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*. England: John Wiley & Sons, Ltd.
- Yadid, G., Nakash, R., Deri, K.K, Tamar, F., Kinor, N., Gispan, I. y Zangen, A. (2000). Elucidation of the neurobiology of depression: insights from a novel genetic animal model. *Progress in Neurobiology*, 62: 353-378.
- Yamada, N. y Takahashi, S. (1991). Methods of assessing circadian rhythms in animal models of affective disorders. En A. Boulton, G. Baker y M. Martin-Iverson (Eds.): *Animal models in psychiatry. Neuromethods* (vol. 19). Clifton, NJ: Humana Press: 136-137.

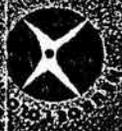
APÉNDICE C

Contreras CM, JF Rodríguez-Landa, **AG Gutiérrez-García** (2002). Estrés psicosocial: repercusiones neuronales e implicaciones farmacológicas. En Manzo J (Ed.). Neuroetología: La década del cerebro y la conducta animal. Neuroetología. México: Universidad Veracruzana, Xalapa, pp. 267-281, 2002. ISBN 968-834-588-1.

**LA DECADA DEL CEREBRO Y
LA CONDUCTA ANIMAL
NEUROETOLOGIA**

Editor
Dr. Jorge Manzo Deras

Instituto de neuroetología
UNIVERSIDAD VERACRUZANA



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Dr. Víctor Arredondo Álvarez

Rector

Dr. Raúl Arias Lovillo

Secretario Académico

Dr. Carlos M. Contreras Pérez

Director General de Investigaciones

Mtro. Ernesto Rodríguez Luna

Director del Área Biológico-Agropecuaria

Mtro. Domingo Canales Espinosa

Director del Instituto de Neuroetología

Primera Edición: 2002

D.R. © UNIVERSIDAD VERACRUZANA

ISBN 968-834-588-1

Capítulo 18

Estrés Psicosocial: Repercusiones Neuronales e Implicaciones Farmacológicas

Carlos M. Contreras*, Juan Francisco Rodríguez-Landa y
Ana Gloria Gutiérrez-García
ccontreras@uv.mx*, juarodriguez@uv.mx, angutierrez@uv.mx

Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Apartado Postal 320, Xalapa, Ver., 91001; Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
Tel./Fax (228) 812-5748

* = Correspondencia

INTRODUCCION

Se entiende por neuroetología el estudio científico del comportamiento del hombre y de los animales que toma en consideración las bases anatomofuncionales del sistema nervioso. Toma entonces como punto de partida a la neurofisiología, la psicofisiología, la neuroquímica y otras neurociencias y, desde luego la psicología comparada. Así, se intenta abordar el estudio del comportamiento a partir de un conjunto de enfoques situados a niveles diversos de organización como el molecular, el neuronal, el cerebral, el individual o el social formulando teorías y métodos integrativos acerca de los procesos y eventos que permean a estos niveles. Así, los códigos establecidos por las redes multisinápticas de la actividad neuronal, el flujo de la experiencia consciente y las pautas motoras que definen la conducta de un organismo constituyen solo algunos de los aspectos que han intentado abordar estas disciplinas desde hace ya varios años, pero por separado.

El campo de la etología moderna debe mucho al trabajo de Konrad Lorenz, quien presentó diversos y llamativos ejemplos de secuencias de comportamiento y rasgos que son específicos para cada especie; esto es, que caracterizan a individuos de la misma especie de manera semejante a como lo hace la estructura y la forma corporal. Además, estas conductas podían ser puestas de manifiesto de manera reproducible por estímulos y condiciones ambientales apropiadas. De esta manera, una secuencia conductual determinada dependería entonces de la presencia de estímulos externos adecuados, y de mecanismos cerebrales funcionales. Así, considerando el proceso del desarrollo

Capítulo 18

resulta relevante determinar lo que ocurre en algunas de las etapas críticas que determinan ciertas pautas conductuales en la etapa adulta. Por ejemplo, los trabajos fundamentales de Harry Harlow sobre el desarrollo del afecto y el amor en primates no humanos permitieron identificar las variables físicas y fisiológicas que resultan cruciales para el desarrollo de los afectos. A partir de este momento, se reconoció que diversos estados emocionales no sólo son característicos del ser humano, sino que forman parte de nuestra herencia evolutiva, constituyendo así mecanismos de adaptación biológica, una idea ya enunciada por vez primera por C. Darwin.

En la actualidad, el enlazar la actividad del cerebro con las reacciones emocionales de la conducta normal y alterada constituye parte de nuestro lenguaje cotidiano. Aunque, aún no entendemos por completo su funcionamiento, sabemos que el cerebro es la única estructura de nuestro cuerpo que lucha por conocerse a sí misma, inclusive desde mucho antes de que hubiese sido posible realizar la primer inserción de un electrodo en el cerebro. Tuvo que pasar mucho tiempo para que se aceptara la noción de que las emociones tienen asientos específicos en estructuras particulares del cerebro y que al manipular la neurotransmisión por medios farmacológicos, las emociones pueden ser modificadas; lo cual originó diversas líneas de investigación encaminadas a entender las bases neurobiológicas de algunos trastornos emocionales tales como la depresión y la ansiedad y, en paralelo, entender los mecanismos neurofisiológicos que subyacen al efecto terapéutico de diversos fármacos utilizados en su control. Esto sólo se logró a través de largos años de experimentación al probar hipótesis propuestas por trabajos pioneros, muchos de los cuales surgieron por *serendipia*.

DEPRESION Y ANSIEDAD

Los trastornos del estado de ánimo, constituyen parte de los desórdenes psiquiátricos más frecuentes y a menudo invalidantes que afectan a millones de personas en todo el mundo. La ansiedad, hasta cierto punto, es un estado que se genera cuando los organismos se enfrentan a una situación potencialmente peligrosa, por lo que se considera un mecanismo de alerta o de alarma. La ansiedad se caracteriza por intranquilidad, aumento del estado de alerta, tensión motora e incremento de la actividad autonómica. Estas manifestaciones tienden a desaparecer una vez que el estímulo estresante es retirado; sin embargo, en algunos casos, cuando esta ansiedad persiste por largo tiempo y no tiene relación con el estímulo desencadenante puede considerarse como patológica y ocurrir como uno de los síntomas centrales de algunos desórdenes de la conducta.

Por otro lado, la depresión es un desorden afectivo que se caracteriza por un abatimiento generalizado y anhedonia (incapacidad para experimentar placer), además de retardo motor, abatimiento cognitivo e ideación suicida. La ansiedad y la depresión son entidades patológicas diferentes, sin embargo, un porcentaje alto de individuos padecen los dos tipos de desórdenes de manera simultánea y aún es posible que una de ellas vaya seguida de la otra, lo que sugiere la

posibilidad de que exista una base fisiopatológica común. La interpretación de las causas que ocasionan estos trastornos ha variado a lo largo del tiempo, hasta nuestros días, en los que se les concibe como la consecuencia de múltiples alteraciones en el funcionamiento del sistema nervioso central.

El estudio de la depresión es en cierta forma limitado, dado que el acceso al paciente deprimido reviste dificultades de tipo ético y limitaciones naturales en las maniobras experimentales. Por ello, se hace necesario utilizar modelos en animales de laboratorio que, aun cuando son aproximaciones burdas al padecimiento del ser humano, nos permiten abordar el estudio de los procesos fisiopatológicos involucrados en los trastornos afectivos y de las acciones neurobiológicas que ejercen las terapias antidepresivas.

MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA DEPRESION

Los modelos animales son manipulaciones experimentales, que intentan remedar de manera simplificada, algunas características de un padecimiento en particular que aqueja al ser humano. Su utilidad reside en que pueden detectar el potencial terapéutico de algunas drogas además de proporcionar datos relevantes sobre el mecanismo de acción de fármacos diversos. Asimismo, constituyen una herramienta en la determinación de los substratos neurobiológicos de los desórdenes que representan. En nuestro grupo de trabajo utilizamos, entre otras, la prueba de nado forzado la cual es sensible para detectar la potencia de los fármacos antidepresivos y explicar algunas de las bases neurobiológicas de la depresión experimental.

En el modelo de nado forzado, los animales son introducidos en un estanque con agua, sin posibilidades de escape, una condición que gradualmente induce un estado de desesperanza evidente por un aumento de la inmovilidad. Esta inmovilidad se define como todos aquellos episodios en los cuales el animal sólo realiza los movimientos mínimos que le permiten conservarse a flote, sacando su cabeza por arriba de la superficie del agua y manteniendo así la respiración. En esta prueba, el estado de desesperanza se induce sometiendo a las ratas que se usan como sujeto experimental, a una sesión de 15 min llamada pre-prueba, que se realiza 24 hrs antes de la sesión de registro (5 min) y que representa un estresor lo suficientemente importante como para incrementar el tiempo de inmovilidad en la sesión de prueba. Aquí, llaman la atención dos aspectos. El primero se relaciona con un aspecto ampliamente debatido y prácticamente puesto en el abandono. Se trata de la teoría del instinto, ampliamente defendida por K. Lorenz. Para la prueba de nado forzado se utilizan ratas de laboratorio, es decir animalillos que nacen, viven y mueren en una cautividad privilegiada, con alimento, agua y suficiente viruta seca, que les permiten vivir en mejores condiciones que muchos seres humanos. Y excepto las sufridas ratas que usamos en nuestros estudios -nunca, nunca- tienen contacto con una cañería, ni se ven inundadas. Cuando son pequeñas, no ven a sus progenitores enfrentarse a una situación de emergencia como significa el nado, de modo que el aprendizaje por imitación puede ser descartado. Pues bien, tan

Capítulo 18

pronto son introducidas al estanque, como lo hacen otros mamíferos, nadan con una notable destreza y vigor. El segundo aspecto, es que para poder observar la inmovilidad en el nado forzado en la rata, es necesaria la presentación previa de un estímulo estresante, el cual de acuerdo con otros autores, puede ser la preprueba, aunque basta la exposición a una luz brillante, o lo que se ha denominado **estrés ligero** (cambios de ciclo luz-oscuridad, inclinación de la jaula de estancia y otras maniobras). Entonces llama la atención, el hecho de que la administración de numerosos compuestos antidepresivos eficaces clínicamente, disminuya la inmovilidad en esta prueba. Así, sin tratar de revivir modelos teóricos en desuso, como el de los instintos, es posible suponer que el genoma contiene los códigos necesarios para que ocurran ciertas pautas conductuales que no requieren del aprendizaje. Uno de ellos -obvio- es el nado, pero el otro aparece en situaciones relacionadas con el estado afectivo y motivacional de los individuos, se trata del abandono de la lucha, es decir, la **desesperanza**.

En otro modelo, el de **desesperanza aprendida**, los animales son sometidos a choques eléctricos inevitables de baja intensidad en las patas y al cabo de poco tiempo, abandonan todo intento de escapar de esa y otras situaciones aversivas. La desesperanza ocurre porque los animales son expuestos a una situación inevitable, produciendo una circunstancia a la que Seligman y su grupo denominaron **indefensión**, un estado que se produce cuando los acontecimientos son incontrolables. Notablemente, todo el cuadro conductual, se revierte cuando se administran diversos antidepresivos.

Entonces, las ratas y otras especies cuando son tratadas con fármacos antidepresivos incrementan los intentos de evitación de estímulos aversivos. Así, los animales se muestran más motivados para buscar una solución ante la situación de apremio a la cual están siendo sometidos. Estas conductas animales remedan una de las características de la depresión en el humano, los cuales al no tener control sobre situaciones estresantes dejan de luchar, sus expectativas de incontrolabilidad crean por consiguiente miedo y ansiedad. La ansiedad genera a su vez pasividad e inhibición y el individuo reduce al mínimo su interacción con el ambiente, al carecer de incentivos y motivaciones. Por lo tanto, los modelos presentan validez predictiva y de constructo, dado que existe similitud fenomenológica entre el modelo y el desorden modelado y el desorden conductual se revierte con el tratamiento farmacológico adecuado.

De manera general, la gran mayoría de los modelos animales para el estudio experimental de la depresión y los más utilizados en la actualidad para evaluar el potencial de diversos fármacos antidepresivos remedan la depresión exógena o reactiva en la medida en que son los factores ambientales los que desencadenan los cambios conductuales y fisiopatológicos sugerentes de depresión.

Así, se ha sugerido una relación causal entre los acontecimientos estresantes continuos y el inicio de la depresión. La exposición continua a estresores, conduce a depresión entre 60 y 75% de los sujetos. Así, el estrés sostenido puede generar una inadecuada o insuficiente respuesta del individuo,

que finalmente puede contribuir a la expresión y/o exacerbación de diversas patologías tales como la ansiedad y la depresión. En este sentido, los modelos experimentales para el estudio de la depresión y de las acciones de los antidepressivos utilizan diversos estresores para inducir un estado de desesperanza caracterizado por alteraciones conductuales y neuroquímicas que remedan algunos aspectos de la depresión clínica.

Sin embargo, la mayoría de los modelos utilizan estresores que conducirán a esquemas conductuales semejantes a la depresión, pero que son ajenos a la cotidianidad del animal de experimentación, y en todos los casos se produce un cambio conductual ligado a una manipulación experimental extraña (suspensión por el rabo, nado forzado, choques eléctricos en las patas, cambios extremos de temperatura, entre otros). En una aproximación más naturalista a los efectos del estrés, se han diseñado modelos que semejan las condiciones sociales en las que viven los sujetos vulnerables, al emplear estímulos más cotidianos en la vida de los animales que viven en grupo, con la finalidad de estudiar así, las estrategias conductuales que se emiten en una interacción social de conflicto. Los hallazgos han permitido proponer que el estrés psicosocial constituye uno de los factores que predisponen al individuo a desarrollar trastornos del estado de ánimo (Figura 18-1).

Criterios de validez propuestos por
McKinney y Bunney (1969)
tomado de Porsolt et al. 1991

MODELO	ESTÍMULO DEPRESOR	REFERENCIA
Prueba de nado forzado	Medio aversivo (agua) + espacio restringido	Porsolt, et al 1977
Prueba de suspensión del rabo en ratón	Restricción del movimiento	Steru, et al 1985
Desesperanza aprendida	Choques eléctricos incontrolables	Seligman, 1975
Estrés ligero	Presentación de varios estresores de manera impredecible	Katz, 1981

1. Semejanza en el estado conductual inducido
2. Semejanza en las condiciones inductoras.
3. Semejanza en los mecanismos subyacentes
4. Las alteraciones inducidas deben ser revertidas por tratamientos clínicamente eficaces



MODELO	ESTÍMULO DEPRESOR	REFERENCIA
Estrés psicosocial	Factores significativos socialmente: derrota, social, aislamiento, comunicación intraspecífica, entre otros	Blanchard y Blanchard, 1991, Fusch, et al 1996

Figura 18-1 Modelos animales para el estudio experimental de la depresión

EL ESTRÉS PSICOSOCIAL

El estrés psicosocial se considera uno de los factores que predispone al desarrollo de diversos desórdenes tales como la ansiedad y la depresión. El método de comunicación desarrollado por Ogawa y Kuwahara (1966) parece ser un modelo apropiado para estudiar los cambios conductuales y fisiológicos que se desencadenan bajo situaciones de estrés psicosocial, basándose en una comunicación emocional intraespecie sin la participación de un estresor físico directo. Por ejemplo, un ratón que no recibe choques eléctricos en las patas puede desarrollar úlceras gástricas cuando es espectador de las respuestas emocionales de otro ratón que recibe choques eléctricos en las patas. Estas respuestas, todas ellas reflejo del dolor, involucran diferentes sistemas sensoriales, por ejemplo, el auditivo mediante la percepción de las vocalizaciones; el olfativo mediante la micción; e incluso el visual, al presenciar los saltos y el esfuerzo por escapar desplegado por su compañero. Por tanto, las lesiones estomacales y otras alteraciones conductuales pueden ser provocadas por una comunicación afectiva. Sin embargo, existe poca información disponible sobre las bases funcionales de este fenómeno.

En otros modelos experimentales de estrés psicosocial se somete a los animales a una relación social de conflicto a corto plazo basada en las relaciones dominante-subordinado. En el animal que resulta derrotado ocurre una hiperactividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que se relaciona con incremento del cortisol urinario e hipertrofia de las glándulas adrenales, lo que es sugerente de un estado ansioso agudo. Todo ello se acompaña de niveles bajos de actividad locomotora y disminución del peso corporal, lo que a su vez es sugerente de desesperanza. Si la situación de sumisión forzada se alarga, las ratas pueden llegar a desplegar un abatimiento conductual generalizado, caracterizado por falta de reactividad a la estimulación y abandono de todo intento de sobrevivencia, al grado de permanecer inmóviles en una de las esquinas de la caja de prueba y con la narina enterrada en el aserrín (Fig. 18-2). Como se observa, y guardando la distancia astronómica que existe entre las pautas conductuales de un roedor y las del ser humano, encontramos una evidente semejanza con aquel personaje para quien las cotidianidades han rebasado su repertorio de habilidades y resistencia.

En nuestro laboratorio, hemos utilizado un modelo de estrés psicosocial en el cual encontramos que los animales que presencian por vía auditiva y olfativa la respuesta de otro individuo que está recibiendo choques inevitables en las patas, despliegan mayor ansiedad que inclusive los propios animales que recibieron directamente el estresor físico. Creemos que esta ansiedad quizá esté mediada por una señal química presente en la orina de los animales que sufrieron el estrés directamente, ya que la orina recabada de estos animales puede funcionar como un estímulo condicionante para evocar respuestas en algunas estructuras del sistema límbico, como la amígdala basolateral y el septum. Aún así, no es posible -por ahora- descartar la participación de las vocalizaciones audibles y ultrasónicas en el desarrollo de la ansiedad desplegada por los

animales sometidos a este tipo de estrés psicosocial. Sin embargo, el sistema olfativo de la rata desempeña un papel importante en muchos aspectos de su comportamiento y una de sus funciones principales es la comunicación intraespecífica, en donde la comunicación mediada por sustancias químicas bien podría constituir un factor que contribuye a conservar la homeostasis del grupo. Luego entonces, la ansiedad que se genera cuando los individuos enfrentan una situación potencialmente peligrosa, podría ser un mecanismo de alerta o de alarma, mediado por una comunicación emocional intraespecífica eficaz e inmediata.

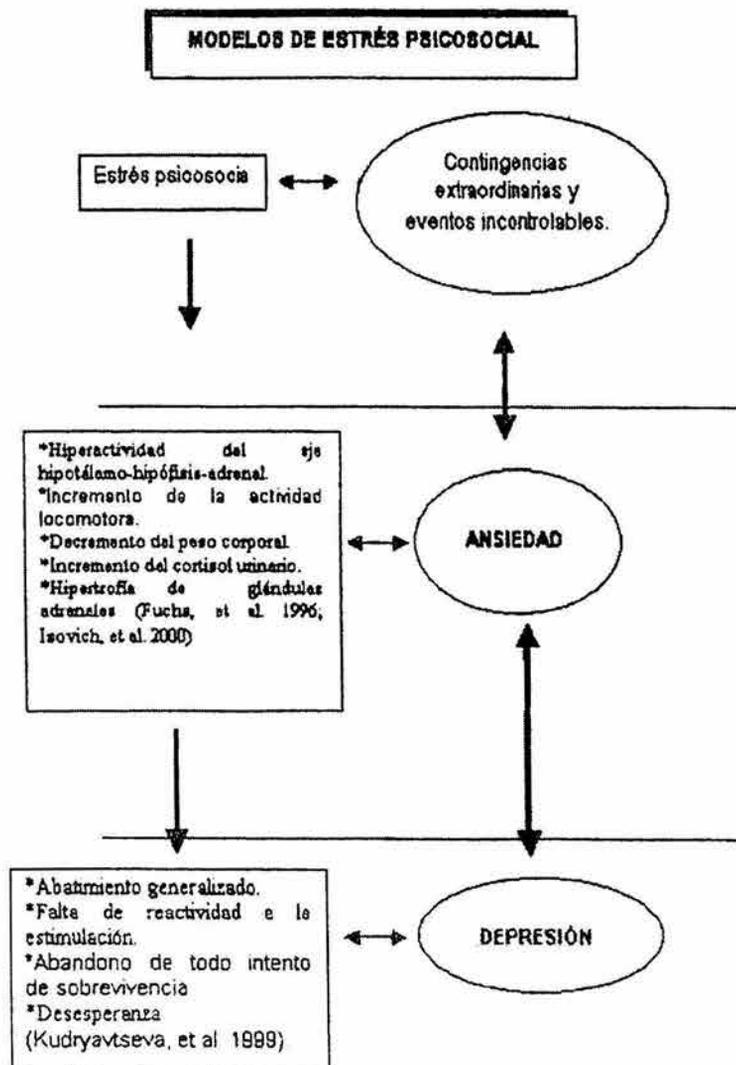


Figura 18-2. Modelo de estrés psicosocial, una aproximación más naturalista para el estudio experimental de la depresión.

Capítulo 18

Conviene mencionar algunos conceptos que se han elaborado en relación con las estructuras y niveles implicados en la organización de las reacciones emocionales relacionadas con el olfato. Estas estructuras, como el área septal, pertenecen al sistema límbico el cual recibe aferencias olfatorias que al parecer están íntimamente relacionadas con aquellas funciones emocionales asociadas a la olfacción. Efectivamente, se ha demostrado que el área septal es una de las "zonas de placer" del cerebro de las ratas y al parecer, esta estructura se encuentra implicada en el desorden afectivo, cuyo síntoma cardinal es la pérdida de la capacidad para experimentar placer. Luego entonces, no es de extrañar que numerosas pautas conductuales sean moduladas por diversas sustancias odoríferas, en una forma de comunicación intraespecífica que da lugar a diversos procesos emocionales, incluyendo los afectivos.

AUTOESTIMULACION INTRACRANEAL

Olds y Milner (1954), sin proponérselo, describieron un interesante fenómeno que revolucionó el estudio experimental del substrato anatomofuncional de la motivación y el reforzamiento. El concepto de autoestimulación intracraneal, describe a un fenómeno que se observa cuando los animales de laboratorio han sido implantados con electrodos en algunas estructuras rostrales del cerebro y mediante sencillos programas de reforzamiento pueden aprender a proporcionarse estímulos eléctricos por medio de un sistema de retroalimentación. Los animales tienen acceso a presionar una palanca para activar un dispositivo electrónico que proporciona pulsos eléctricos en esas partes del prosencéfalo. En estas condiciones prefieren oprimir la palanca (y recibir el estímulo eléctrico) antes que alimentarse, ingerir líquidos, tener actividad sexual e incluso autoadministrarse drogas altamente adictivas.

Así, surgió el concepto de que en el cerebro existen zonas que responden ante situaciones placenteras y durante las siguientes décadas, aparecieron un sin número de investigaciones que confirmaron el fenómeno de autoestimulación intracraneal y que dieron lugar a la identificación de las áreas cerebrales involucradas, así como a las bases neuroquímicas que lo sustentan. Los circuitos neuronales que conforman el sistema límbico están relacionados directamente con la génesis y la modulación de estas emociones. Esta relación se ha establecido en buena parte, por medio del conocimiento de los mecanismos sinápticos que parecen estar modificados en patologías como la ansiedad y la depresión, así como de los mecanismos de acción que diversos fármacos ejercen para modificar el comportamiento. El área septal ha sido una de las estructuras estudiadas más susceptibles al fenómeno de la autoestimulación intracraneal, por lo que ha sido considerada como uno de los centros de integración emocional y control de la respuesta hedonista

LOS ANTIDEPRESIVOS Y EL NUCLEO SEPTAL LATERAL

La evaluación de la actividad neuronal mediante el registro de la actividad unitaria extracelular del núcleo septal lateral ha sido relacionada con la

depresión, la ansiedad y las acciones de los antidepresivos (Fig. 18-3). Por ejemplo, la actividad de las neuronas del septum lateral disminuye ante la presentación de un estímulo aversivo condicionado, mientras que cuando los animales aprenden a predecir un estímulo agradable (por ejemplo el alimento que está por llegar), la actividad neuronal de este núcleo límbico se observa incrementada de manera anticipatoria. En adición, las ratas que son sometidas a situaciones estresantes provocadas por un estímulo aversivo, e.g., frío, desarrollan úlceras gástricas; pero, este efecto del estrés se reduce cuando en forma simultánea a la aplicación del estresor se les estimula eléctricamente el septum lateral, lo cual podría deberse a las características de recompensa que tiene por sí misma la estimulación eléctrica de esta estructura. Por lo tanto, los cambios observados en la actividad unitaria del septum sugieren que este núcleo podría ser considerado como uno de los sitios donde se gestan las bases neuronales que subyacen a las respuestas conductuales relacionadas con la aceptación de situaciones desagradables y también con el hedonismo.

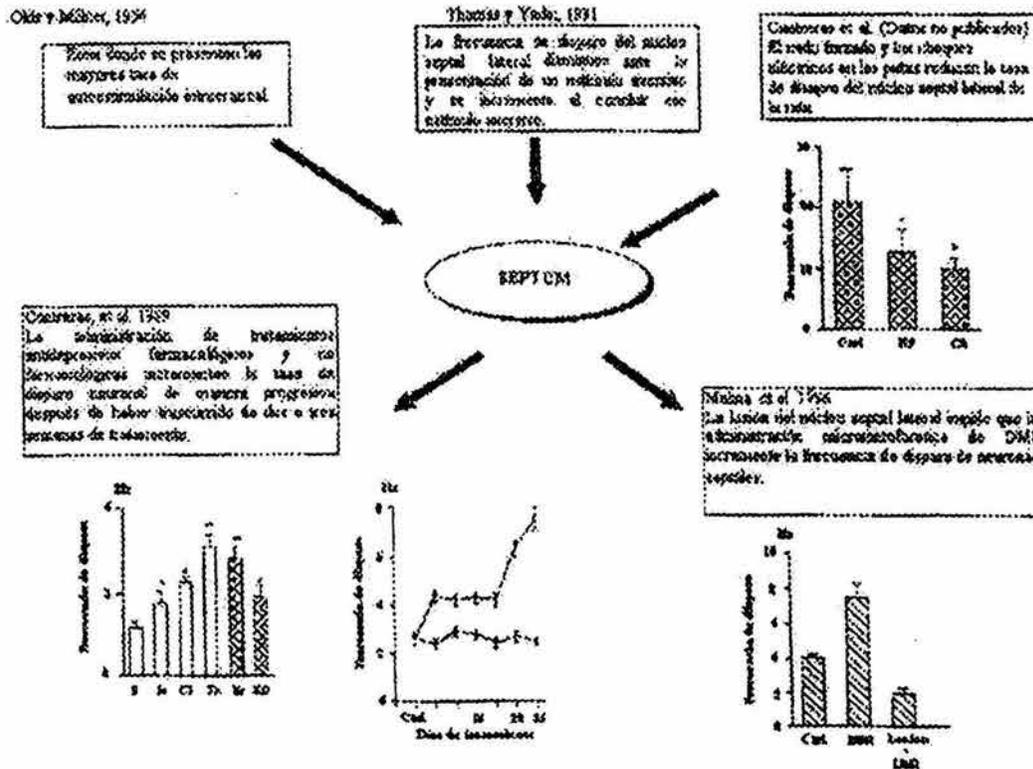


Figura 18-3. Participación del núcleo septal en las emociones y en el mecanismo de acción de los fármacos antidepresivos.

En nuestro grupo de trabajo hemos demostrado en repetidas ocasiones que la actividad del núcleo septal lateral y otras estructuras cerebrales se modifica tras la administración de diversas terapias antidepresivas farmacológicas y no farmacológicas. En la rata, la administración de antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la monoaminoxidasa, el electrochoque o

Capítulo 18

la privación de sueño, aumentan significativamente la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral en sus aspectos dorsal e intermedio. Todas estas terapias farmacológicas y no farmacológicas se emplean con eficacia para el tratamiento de la depresión en los humanos. También, hemos demostrado que el incremento de la tasa de disparo del septum ocurre de forma gradual y alcanza su máxima expresión una vez que han transcurrido de dos a tres semanas de tratamiento. Este hecho puede resultar de particular interés dado que coincide con el tiempo que debe transcurrir en la clínica para que un fármaco antidepresivo ejerza su efecto terapéutico en el paciente deprimido. Estos hallazgos nos han llevado a proponer la participación de este núcleo en las acciones de los fármacos antidepresivos. De manera semejante la desmetilimipramina incrementa la tasa de disparo del septum lateral, pero este efecto no se observa en las neuronas septales remanentes a una lesión temprana realizada cuando las ratas tienen unos cuantos días de nacidas. Asimismo, el efecto de la clorimipramina sobre la tasa de disparo de las neuronas septales es cancelado cuando se lesionan las vías noradrenérgicas de la amígdala. De esta manera se propone que el septum lateral así como sus conexiones noradrenérgicas amigdalinas y las serotonérgicas que provienen del núcleo dorsal del rafe parecen ser un sitio relevante en las acciones de los antidepresivos.

Ahora bien, de ser el caso que las terapias antidepresivas produzcan un incremento de la tasa de disparo del núcleo septal lateral, es factible que en la depresión ocurra un abatimiento del disparo neuronal de estas estructuras. Algunas evidencias apoyan esta aseveración. La tasa de disparo del septum lateral disminuye cuando los animales pueden predecir un estímulo aversivo cuyo estado emocional se relaciona con ansiedad y miedo. En consistencia hemos encontrado que cuando los animales son sometidos a choques eléctricos inevitables en las patas o son forzadas a nadar, la tasa de disparo del septum lateral disminuye alrededor del 50%, lo cual se acompaña de conductas sugerentes de un estado de desesperanza. Así, es posible sugerir que el abatimiento del disparo neuronal del septum pudiera ser una de las bases neurobiológicas de la depresión experimental y que, al menos parcialmente, el antidepresivo al restaurar los sistemas de neurotransmisión, particularmente los serotonérgicos, lleve a un incremento de la actividad neuronal septal y sea esta una de las bases de su efecto terapéutico.

En los modelos de depresión experimental se observa un abatimiento de la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral ante situaciones de estrés. Sin embargo, es posible que otras estructuras relacionadas con la expresión de la conducta motivada también modifiquen su actividad de manera diferencial. En este sentido, hemos evaluado el efecto de fármacos antidepresivos que actúan primariamente sobre el sistema serotonérgico; pero, sobre estructuras que son ricas en terminales dopaminérgicas, como el núcleo accumbens. Este núcleo pertenece al sistema mesolímbico y se le ha relacionado con la adicción a drogas psicoactivas, con estados hedónicos y con la expresión de la conducta motivada. Al respecto encontramos que tanto la clorimipramina como la fluoxetina aplicadas

durante 21 días, pero no en una sola dosis, disminuyen la tasa de disparo de las neuronas del núcleo accumbens en toda su extensión, pero especialmente en aquellas neuronas que reciben aferencias inhibitorias provenientes del área tegmental ventral, el principal reservorio cerebral de dopamina. Entonces, es posible que la reducción de la tasa de disparo se deba en parte a la estimulación del sistema dopaminérgico considerando que en el sistema nervioso central la dopamina ejerce acciones inhibitorias sobre el disparo neuronal. Estos datos apoyan la idea que los antidepresivos a largo plazo actúan de manera diversa, ejerciendo acciones en cascada que varios sistemas de neurotransmisión, especialmente en estructuras de "enlace" como el núcleo accumbens, el cual forma parte del sistema mesolímbico relacionado con las emociones y la motivación, pero a su vez tiene conexiones con los sistemas motores.

En consistencia, en otro estudio encontramos que la lesión del núcleo accumbens cancela las acciones conductuales de la desmetilimipramina en la prueba de nado forzado, pero no bloquea el efecto sobre la tasa de disparo del núcleo septal lateral, lo que sugiere que estructuras límbicas como el núcleo septal lateral, la amígdala y el hipocampo, por mencionar sólo algunas, requieren de una estructura como el núcleo accumbens, para integrar y posteriormente enviar la información hacia sistemas integradores de la región motora mesencefálica, los cuales modulan las vías cortico-espinales. De esta manera se tendrían dos niveles. En el nivel límbico se estarían estableciendo los procesos afectivos de los que en el humano damos cuenta por el reporte verbal. En el otro nivel, el mesolímbico, el nigroestriado y sus conexiones cortico-espinales estarían implicadas en la expresión motora de la motivación. En otras palabras, este segundo componente es al que tenemos acceso en la experimentación animal, ya que al carecer de información verbal, se miden conductas relacionadas con los procesos emocionales y motivacionales expresadas por cambios motores.

En un intento de correlacionar ciertas pautas conductuales con la actividad cerebral o, si así se desea con una base neuroetológica, hemos podido identificar las variaciones de la actividad neuronal del núcleo septal lateral con la desesperanza, evaluada mediante la inmovilidad en la prueba de nado forzado. Ya mencionábamos que la actividad neuronal del núcleo septal lateral disminuye ante la presentación de un estímulo aversivo y por otro lado, hemos encontrado que la prueba de nado forzado constituye un importante estresor que disminuye la actividad neuronal de esta estructura en comparación con animales que no han pasado por dicha prueba. Sin embargo, estos hallazgos los hemos realizado *a posteriori* del estrés. Faltaba entonces la demostración de que la actividad septal disminuye durante la expresión de la conducta de desesperanza. En efecto, cuando estos animales son sometidos a la prueba de nado forzado y simultáneamente se registra la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral, se observa una disminución de la frecuencia y amplitud de la actividad septal durante los periodos de inmovilidad prolongados (Fig 18-4). Lo anterior sugiere que el incremento de la tasa de disparo del septum se relaciona con el aumento de la motivación del animal por escapar de la situación de apremio que el nado

Capítulo 18

forzado representa, en tanto que la disminución de la tasa de disparo se podría relacionar con la desesperanza.

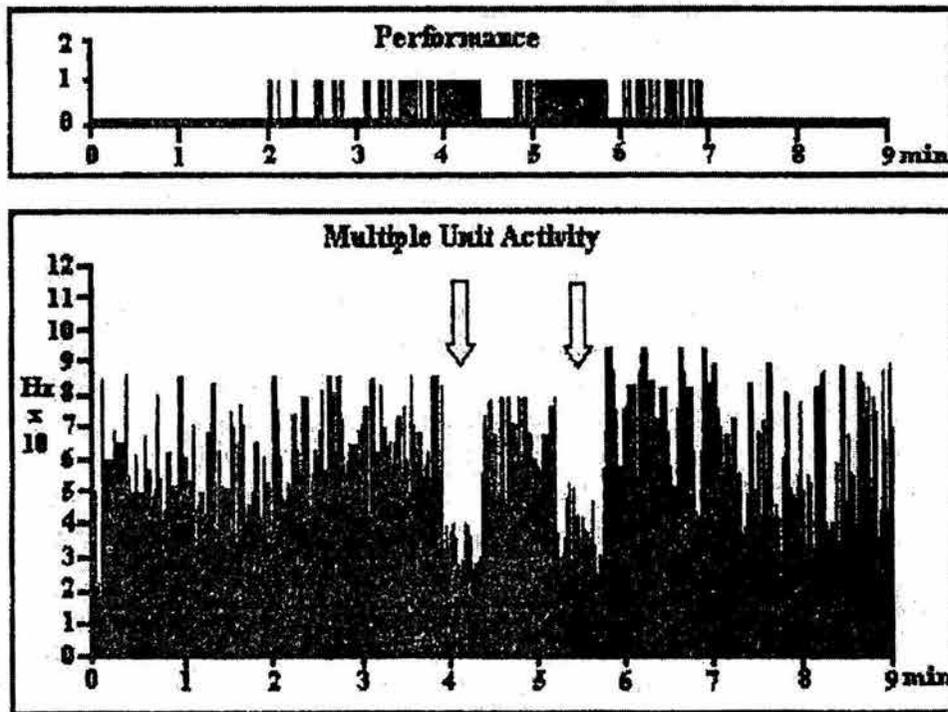


Figura 18-4. Actividad multinunitaria de ratas implantadas crónicamente con un electrodo en el núcleo septal lateral y forzadas a nadar. En la grafica superior las marcas indican los periodos en los que la rata presentó la inmovilidad. En la gráfica inferior se muestra la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral. Las flechas indican la reducción de la tasa de disparo de las neuronas septales, lo cual coincide con la inmovilidad desplegada por la rata en la prueba de nado forzado. En la gráfica inferior los dos primeros minutos corresponden a la actividad basal del septum lateral, del minuto 2 al 7 corresponde a los 5 min de nado forzado, los dos últimos minutos corresponden al registro post nado forzado.

CONCLUSIONES

La neuroetología debe ser concebida como una interciencia que toma recursos de varias otras y su objetivo es brindar respuestas a las interrogantes de las bases neuronales de la conducta. Para ello, consideramos que el estudio de padecimientos como los trastornos afectivos representa un desafío atractivo, ya que trata sobre los sentimientos. Y sin embargo, el obstáculo más importante está representado por la escasez de modelos animales. Así, es necesario poner mucha imaginación en el desarrollo y aplicación de tales modelos. Hemos descrito algunos de estos modelos que se usan para estudiar los trastornos afectivos. Unos de ellos, son más sensibles que otros, pero todos llevan la tarea de escudriñar los secretos de nuestro cerebro y de cómo esta estructura misteriosa y apasionante controla todos los demás órganos y sistemas. Y aun más intrigante

como se regula a sí mismo y nos lleva a comunicar nuestras dudas y experiencias sobre sí mismo.

El camino es largo aun.

AGRADECIMIENTOS

Durante la realización de este trabajo JFR-L y AGG-G recibieron becas para estudios de Doctorado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-México) registros 124885 y 150023, respectivamente. Además de becas parciales de la Dirección General de Estudios de Postgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-UNAM).

LECTURAS RECOMENDADAS

Anisman H y Zacharko RM. Depression: the predisposing influences of stress. *Behav. Brain Sci.* 5 (1982) 89-137.

Contreras CM, Alcalá-Herrera V y Marván ML.- Action of antidepressants on the septal nuclei of the rat. *Physiol. Behav.* 46 (1989) 793-798.

Contreras CM, Chacón L, Marván ML y Guzmán-Sáenz MA.- Amygdalar catecholaminergic input to septal nuclei relation to clomipramine actions on lateral septal neurons in the rat. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 40 (1992) 9-13.

Contreras CM, Marván ML, Alcalá Herrera V y Guzmán-Sáenz MA.- Chronic clomipramine increases firing rate in the lateral septal nuclei of the rat. *Physiol. Behav.* 48 (1990) 551-554.

Contreras CM, Marván ML y Alcalá-Herrera V.- A few electroconvulsive shocks produce more reliable effects on firing rate in lateral septal neurons than repetitive treatment in the rat. *Neuropsychobiol.* 27 (1993) 80-82.

Contreras CM, Marván ML y Alcalá-Herrera V.- Sleep deprivation is a less potent agent than clomipramine in increasing firing rate in lateral septal neurons in the rat. *Neuropsychobiol.* 27 (1993) 83-85.

Contreras CM, Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG y Bernal-Morales B.- The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *J. Psychopharmacol.* 15(2001) 231-236.

Díaz JL.- Estructura del comportamiento y de la dinámica social: una analogía musical. En Díaz JL (ed).- *Análisis estructural de la conducta.* UNAM México (1985) 19-45.

Duman RS, Heninger GR y Nestler EJ.- A molecular and cellular theory of depression. *Arch. Gen. Psychiat.* 54 (1997) 597-606.

Capítulo 18

- Fuchs E, Kramer M, Hermes B, Netter P y Hlemke C.- Psychosocial stress in tree shrews: clomipramine counteracts behavioral and endocrine changes. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54(1996) 219-228.
- Gambarana C, Ghiglieri O, Tagliamonte A, D'alessandro N y De Montis MG.- Crucial role of D1 dopamine receptors in mediating the antidepressant effect of imipramine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 50(1995) 147-151.
- Gutiérrez-García AG y Contreras CM.- El comportamiento sumiso: una estrategia conductual defensiva en los animales y en el humano. *Psicología y Salud.* 10 (2001) 201-213.
- Ishikawa M, Hara Ch, Ohdo S y Ogawa N.- Plasma corticosterone response of rats with sociopsychological stress in the communication box. *Physiol Behav.* 52 (1992) 475-480.
- Isovich E, Mijnter J, Flügge G y Fuchs E.- Chronic psychosocial stress reduces the density of dopamine transporters. *Eur. J. Neurosci.* 12 (2000) 1071-1078.
- Kudryavtseva NN, Bakshantovskaya IV y Koryakina LA.- Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 38 (1991) 315-320.
- Molina M, Díaz-Meza JL, Saavedra M, Ortiz M y Contreras CM.- Raphe-septal neurons changes in sensitivity to desipramine following an early septal lesion in the rat. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 20 (1996) 1427-1434.
- Ogawa N y Kuwahara K.- Psychophysiology of emotion-communication of emotion. *Jpn. J. Psychosom. Med.* 6 (1966) 352-357.
- Olds J y Millner P.- Positive reinforcement produced by electrical stimulation on septal area and other regions of rat brain. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 47 (1954) 419-427.
- Porsolt RD, Lenégre A y McArthur RA.- Pharmacological models of depression. En Oliver V, Mos J, Siangon J (Eds).- *Animal models in psychopharmacology: advances in pharmacological sciences.* Birkhauser Verlag, Switzerland (1991) 137-159.
- Porsolt RD, Pichon ML y Jalfre M.- Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature* 266 (1977) 730-732.
- Rodríguez-Landa JF y Contreras CM.- Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Arch. Neurocién. (Méx).* 5 (2000) 74-83.
- Seligman ME y Maier SF.- Failure to escape traumatic shock. *J. Exp. Psychiat.* 122 (1967) 1-9.
- Thomas E, Yadin E y Strickland CE.- Septal unit activity during classical conditioning: a regional comparison. *Brain Res.* 547 (1991) 303-308.
- Willner P.- Animal models of depression. En Den Boer JA, Ad Sitsen JM (Eds).- *Handbook of depression and anxiety. A biological approach.* Marcel Dekker Inc. New York (1994) 271-316.

Yadin E y Thomas E.- Septal correlates of conditioned inhibition and excitation in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 95(1981) 331-334.

Yadin E y Thomas E.- Stimulation of the lateral septum attenuates immobilization-induced stress ulcers. *Physiol. Behav.* 59(1996) 883-886.

APÉNDICE D

Gutiérrez-García AG, CM Contreras, JF Rodríguez-Landa (2004). Multineuronal activity of lateral septal nucleus decreases simultaneously to immobility in rats forced to swim (en proceso).

Multineuronal activity of lateral septal nucleus decreases simultaneously
to immobility in rats forced to swim

Ana G. Gutiérrez-García ^a, Carlos M. Contreras ^{a,b} and Juan Francisco Rodríguez-Landa ^a

^a Laboratorio de Neurofarmacología,
Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana and
^b Instituto de Investigaciones Biomédicas,
Universidad Nacional Autónoma de México
Xalapa, Veracruz. México.

Number of figures and tables: 3 figures

Corresponding author:
Dr. Carlos M. Contreras
POB 320, Xalapa 91000, Veracruz. MEXICO.
E-mail: ccontreras@uv.mx
Tel-fax: (228) 8-13-51-57

ABSTRACT

Some models have been useful for testing and evaluating potentially antidepressant drugs. Among them is the forced swimming test, in which rats or mice are introduced into an inescapable situation; after several minutes the animals abandon their efforts and display immobility, which has been interpreted as a reduction in their motivation to solve the problem (behavioral despair). Herein, the administration of antidepressant drugs diminishes immobility. On the other hand, the lateral septal nucleus (LSN) is a limbic structure susceptible to self-stimulation and is considered as related to hedonic aspects of behavior; therefore, it has been suggested that it participates in the processing of hedonic sensations, aspects that are altered in depression, and its firing rate increases after some antidepressants are administered. Therefore, a reduction in LSN neuronal activity may be expected during inescapable situations. Since, the possible relationships between the periods of immobility during swimming and the multineuronal activity of the LSN (MUA-LSN) in chronically implanted rats is unknown, we made a simultaneous MUA-LSN recording of male Wistar rats during the forced swim test. The results showed a significant correlation ($r=0.821$, $p<0.0003$) between diminished MUA-LSN and the periods of swimming (displacement), i.e., as the recording time increases, the MUA-LSN diminishes; we also observed that periods of immobility longer than 3 sec significantly ($p<0.05$) correlate with decreased MUA-LSN. These results suggest that the decrease in MUA-LSN occurs simultaneously with immobility in the forced swimming test and may represent a neuronal correlation contributing to the understanding of behavioral despair.

Theme: Neural Basis of Behavior

Topic: Motivation and emotion

Keywords: Behavioral despair; Forced swimming test; Lateral septal nucleus; Motivated behavior; Multineuronal activity

1. Introduction

The forced swimming test is an experimental model originally used for screening the potency of antidepressant drugs [32]. After an initial period of vigorous activity, mice or rats submitted to the test become immobile, abandoning their attempts to escape. Thus, their increased immobility has been interpreted as resembling human despair because of its similarity to some of the characteristics of clinical depression, since the rat gives up all attempts to find a way out. Herein, the administration of diverse clinically-effective antidepressants such as tricyclics, monoamino-oxidase inhibitors, atypical antidepressants, and also non-pharmacological treatments such as electroshock and sleep deprivation, reduce immobility [2,25,32].

The amygdaloid complex, the hippocampus, and the lateral septal nucleus (LSN) are interrelated limbic structures whose connections influence affective behavior [19]. These three structures are innervated by neurotransmission systems associated with antidepressant actions, such as the serotonergic [24], the noradrenergic [34] and the dopaminergic [18]. The neuronal firing rate of the LSN, specifically, increases under the actions of tricyclic antidepressants [5,7]. Thus, it is possible that behavioral despair is produced by impairing brain structures involved in rewarding circuits [13], in particular the LSN which is a structure of the limbic system participating in the processes of motivation and reward [35], and receives fibers coming from the neurotransmission systems involved in the actions of antidepressants. The firing rate of the LSN, evaluated by single-unit and multiunit extracellular recordings, diminishes when the animal anticipates aversive situations such as electric foot shocks, but it increases when the animal is capable of anticipating rewarding events such as feeding [35,39,41].

The participation of the LSN in the forced swim test has already been illustrated by the occurrence of increased local expression of mRNA for the *c-fos* gene [10], increased consumption of glucose [12], and decreased concentration of 5-HT after 5 min of forced swimming [21]. These indicators of metabolic changes associated with forced swimming are reversed by the administration of some antidepressant drugs such as fluoxetine, a selective 5-HT reuptake inhibitor producing an increased availability of 5-HT, at least in its reservoir, i.e., raphe nuclei [22]. On the other hand, the firing rate of LSN neurons increases after the administration of fluoxetine at a dose similar to that required to diminish immobility during the forced swimming test in independent groups of rats, probably through a disinhibitory process [9]. Given that 5-HT exerts an inhibitory influence on the LSN [18,20], the neuronal activity of the LSN may be simultaneously reduced during immobility in the forced swim test, a possibility that has not yet been explored. In the present study, therefore, we explore a possible relationship between LSN neuronal activity and periods of immobility in chronically implanted rats.

2. Material and methods

2.1. Animals

Twelve male Wistar rats, weighing between 350-400 g at the beginning of the experiments, were used. The rats were kept in acrylic boxes in housing facilities with a light/dark cycle of 12 x 12 h (lights ON at 7:00 a.m.), a mean temperature of 25 °C (\pm 1), and free access to food and water. Experiments were conducted under strict principles of animal care [29].

2.2. Implantation of electrodes

The rats were anesthetized with ethyl ether (J.T. Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, México) and their heads fixed in a stereotaxic frame (Stoelting, Wood Dale, IL, USA), with the incisor bar set at -5.0 mm. The LSN was located at the following stereotaxic coordinates [31]: AP=0.2 mm in front of bregma; L=0.5 mm from the midline, and H= - 3.5 mm below the cortical surface. A small trepanation allowed the descent of a bipolar electrode, made from stainless steel wire 3 cm in length (distance between tips: 1mm, recording surface: 0.5 mm, 100 μ m diameter, electrical resistance: 70 K Ω), insulated with Teflon except at the tips (California Fine Wire Co.). The recording electrode was fixed to the skull with dental acrylic (Nic Tone ®) and its poles soldered to a female amphenol connector embedded in dental acrylic and fixed to the scalp by a small screw. After a recuperation period of 5 days, forced swimming and MUA-LSN recording sessions began simultaneously.

2.3. Forced Swimming test

We used the forced swimming test as described by Porsolt et al. [32], with some modifications in the characteristics of the tank [8,9,26]. Briefly, the test consisted in placing each rat individually into a rectangular tank (30

x 50 x 60 cm) containing water at 25 °C (± 1) to a depth of 20 cm. The animal was simultaneously forced to swim and subjected to MUA-LSN recording. The occurrence and the total time of immobility were evaluated during the 5-min time of testing. The rats were considered as being immobile when they remained afloat with only the minimum of movements that allowed them to keep their noses above the surface of the water, or when one or two of three hind legs (taking the tail as an extremity) touched the bottom of the tank. For data analysis, displacement was obtained from the difference between the duration of immobility periods minus arbitrarily fixed epochs 20 sec in duration.

2.4. MUA recording

For recordings, a displaceable male connector (which in turn was connected to the recording system) was attached to the scalp-fixed amphenol connector. To prevent the contact of water with the surface of the wires, both connectors were insulated with odorless silicone (Top silicone®). The MUA-LSN was then transmitted to a preamplifier (Grass 7P511L, Quincy, MA, USA) with filters between 300 Hz and 3 KHz, connected in parallel to an oscilloscope (Textronix 511 A, Inc. Beaverton, OR, USA). The MUA-LSN activated a Grass S88 amplifier (Quincy, Ma, USA), which delivered pulses of constant duration and amplitude (0.6 s, 4 V). These were sent in parallel to an audio amplifier and to the serial port (RS232) of an IBM compatible PC in which programs elaborated *ex professo* processed the MUA-LSN during 5 min and provided frequency histograms (1 sec bars), and, as selected by the operator, the mean \pm standard error of MUA frequency every 20 sec.

2.5. Histological control

At the end of each recording session, the recording site was marked by passing direct current through each pole of the electrode for 30 sec. Thereafter, the animals were intracardially perfused with saline solution (50 ml) followed by formaldehyde at 20% (50 ml), and their brains were extracted and preserved in a 20% formaldehyde solution for posterior histological verification. The location of the recording site was verified macroscopically and through simple histological techniques.

2.6. Statistical analysis

A linear regression analysis and Pearson's correlation between the periods of swimming and multineuronal activity were carried out throughout the time of the recording. The MUA-LSN was analyzed by pooling the immobility periods of 1, 2, 3 and ≥ 4 sec through the one-way ANOVA and the Student-Newman-Keuls method *post hoc*. Only values of $p < 0.05$ were considered significant, and results are expressed as mean \pm standard error.

3. Results

The histological analysis allowed the reconstruction of the path followed by the electrodes and indicated that eight of twelve implanted electrodes collected the MUA from the intermediate aspects of the LSN. The results from four other rats conformed another subgroup since, in three of them, the recording was taken from the septofimbrial nucleus and, in one, from the dorsal aspect of the LSN.

3.1. MUA-LSN and forced swimming

In fig. 1 a sample of a time-frequency histogram of the recording of the MUA-LSN taken on-line during the 5-min forced swimming is shown. As can be seen, during some of the periods of immobility a decrease of MUA-LSN is observed, i.e., it does not follow a one-to-one relationship but seems to occur during relatively long periods of immobility.

Insert Figure 1. About here

During the 5-min test, we observed a significant gradual decrease [$F(13,66) = 3.00, p < 0.001$] in the duration of swimming (the difference between the duration of swimming and that of immobility was measured every 20 sec); consequently, the linear regression analysis illustrated a negative correlation ($r = -0.900$) between the time of displacement and of recording (20 sec epochs; $p < 0.00001$) throughout the 5-min test, i.e., the longer the recording time, the shorter the duration of the swim. Similarly, the MUA-LSN amplitude-frequency diminished as the 5-min

swimming test elapsed [$F(13,91) = 1.85, p < 0.04$]; once again, the correlation coefficient ($r = -0.623$) proved to be significant ($p < 0.01$), indicating that a gradual decrease in the MUA-LSN occurs as the time spent in forced swimming elapses. The linear regression and the correlation coefficient between the MUA-LSN and the duration time of forced swimming are shown in Fig. 2. The reduction of the MUA-LSN amplitude-frequency correlated positively with the decreased periods of swimming ($r = 0.821, p < 0.0003$).

Insert Figure 2. About here

3.2. MUA-LSN and immobility periods

The MUA-LSN analysis in relation to the duration of immobility periods (1, 2, 3 and ≥ 4 sec) illustrated that the decrease of MUA-LSN amplitude-frequency was associated with the duration of immobility [$F(4, 835) = 29.2, p < 0.0001$]. The analysis *post hoc* (Student-Newman Keuls) indicated that the MUA-LSN amplitude-frequency decreased only during immobility periods ≥ 3 sec ($p < 0.05$, fig 3).

Insert Figure 3. About here

Finally, the data obtained from the subgroup of rats for which MUA was collected from the intermediate aspect of the LSN or septofimbrial nucleus illustrated that MUA amplitude-frequency did not change during immobility nor, conversely, during displacement (swimming).

4. Discussion

In this study, we explored the MUA-LSN simultaneously to immobility in the forced swimming test. We found that the amplitude and frequency of the MUA-LSN diminished throughout the test, parallel to the increase in the duration of immobility periods, and that immobility periods longer than 3 sec were related to a decrease in MUA-LSN.

Recording the MUA makes it possible to evaluate changes in both the amplitude and the frequency of neuronal activity; consequently it is a rougher form of measuring neuronal activity than single-unit extra-or intracellular recording, but somewhat finer than the electroencephalogram. The MUA has the relative advantage of being able to explore a certain population of neurons rather than recording just one neuron, the functional state of which is unknown [17]. Nevertheless, the basic problem with MUA is to distinguish the difference between changes in amplitude and those in neuronal firing frequency, although both seem to be mutually dependent, i.e., a decrease in amplitude normally corresponds to a decrease in frequency. The only way to achieve adequate control is by comparing the results in a longitudinal design, in which the collection of data came from the same animal in the same experimental session. In the present study, the changes in MUA-LSN associated with the immobility periods came from the same animal in the same experimental session, something that has been tried out by other authors in diverse operational conditioning tests during which changes in LSN activity are simultaneously explored [36,39].

It might be argued that the increasing duration of immobility periods throughout the 5 min of the forced swimming test, parallel to a gradual decrease in the MUA-LSN, may be attributable to fatigue; nevertheless, we found that the decrease in MUA-LSN tends to occur as immobility is observed, but said activity is recovered once the animal resumes swimming (Fig.1). As far as we know, LSN activity is rather associated with motivational and hedonic processes [35,39] than with movement, contrary to other cerebral structures, such as the nigrostriatum [22], for example. Besides, while we evaluated the duration of each period of immobility, other authors have found that the total time of immobility clearly increases after 10 min of the test have elapsed [1]. Finally, the anti-immobility actions of antidepressants are observed only within the first 5 min of the test [23]. In other words, in a forced swimming session of 30 min, a single injection of antidepressants, as well as their long-term administration, will significantly reduce the duration of immobility during the first 10 mins; thereafter, the animals remain immobile for about 85% to 100% of the recording time [23]. Thus, the immobility occurring within the first 5 min of the forced swimming test is associated with the loss of motivation to find an escape from the stressful situation that swimming represents, rather than with fatigue.

Our results indicate a relationship between the decrease in MUA-LSN and periods of immobility longer than 3 sec. In this respect, the LSN seems to play a basic part in processes of despair and hedonism because: 1) it was identified as an area of pleasure a long time ago, according to Olds and Milner [30]; 2) anatomically and functionally it is interconnected with brain structures implicated in emotional control, such as the hippocampus and the amygdala [19]; 3) the single-unit extracellular firing rate increases after antidepressant administration [5,6,9]; 4) its firing rate diminishes when the rats anticipate an aversive stimulus [35]; 5) parallel to the increase in hormonal levels of estradiol and progesterone during the proestrous-estrous phases [14], the time of immobility decreases, and the latency to the first period of immobility and the firing rate of the LSN increase, similarly to what occurs after fluoxetine is administered [8,9]; 6) the LSN has been associated with states of anxiety, since its lesioning or pharmacological inhibition produce anxiolytic effects [28]. Consequently, an increase -within certain limits- in the multineuronal activity of the LSN seems to be associated with affective hedonic situations, whereas its decrease would be associated with a lack of motivation or aversive anticipation. Since the electrical stimulation of the lateral septum during the performance of the paradigm of licking water increases the number of punished responses [41], and also reduces the number of gastric ulcers in animals submitted to stress caused by cold [40], some overactivity of the LSN is interpreted as decreased anxiety. In addition, a lesion to the dorsal and medial portions of the lateral septum decreases the anxiety evaluated in the plus-maze and defensive burying tests [27,37].

In conclusion, the results obtained indicated that a lowered MUA-LSN activity is correlated with increased immobility; therefore, for the first time, we observed the relationship between a reduction in MUA-LSN and the simultaneous immobility displayed by rats forced to swim. However, this correlation does not follow a linear proportion, which suggests at least two possibilities: a) The length of immobility associated with MUA-LSN amplitude-frequency is critical, and b) the LSN is not the only structure related to immobility. Both assumptions seem to be acceptable; in fact, the MUA-LSN becomes reduced only in immobility periods longer than 3 sec. In this sense, there is some discussion about the criterion for defining immobility based on the duration of the event [1,23]. From our results, it may be assumed that only periods of immobility lasting longer than 3 sec correlate with changes in neuronal activity in the LSN [35]. But then, the LSN is anatomically and functionally related to others parts of the brain, some of them associated with hedonic behavior [15] and others with aggressive and territorial behavior [33]. Others structures, such as the amygdala [11] or some brain cortical areas [4,21], may also be involved in motivation for escape. Therefore, the LSN is a portion of a chain of structures associated with motivation which converge at other brain structures related to the integration of motor patterns, such as the striatum [22], the nucleus accumbens [16,38] and the tegmental area [3], for instance. This may explain some inconsistencies in the data, but it may also imply the regionalization of a function in the LSN [27], given that these results were obtained only from the LSN intermediate aspect, but not from the LSN dorsolateral aspect nor from the septofimbrial nucleus.

Acknowledgements

The authors thank Warren Haid and Irene Marquina for revising the manuscript. During this investigation, AGG-G and JFR-L received fellowships from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, México) Reg. 150023 y 124885, respectively and partial fellowships from the Dirección General de Estudios de Postgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-UNAM).

References

- [1] E.L. Abel, P.J. Bilitzke, A possible alarm substance in the forced swimming test, *Physiol Behav.* 48 (1990) 233-239.
- [2] F. Borsini, A. Meli, Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity?, *Psychopharmacology.* 94 (1988) 147-160.
- [3] L. Cervo, C. Rossi, E. Tatarczynska and R. Samanin, Antidepressant-like effect of neurotensin administered in the ventral tegmental area in the forced swimming test, *Psychopharmacology (Berl).* 109 (1992) 369-72.
- [4] T.J. Connor, P. Kelliher, Y. Shen, A. Harkin, J.P. Kelly and B.E. Leonard, Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced-swim test, *Pharmacol Biochem Behav.* 65 (2000) 591-597.
- [5] C.M. Contreras, V. Alcalá-Herrera and M.L. Márvan, Action of antidepressants on the septal nuclei on the rat, *Physiol Behav.* 46 (1989) 793-798.
- [6] C.M. Contreras, D. Beltrán, M. Saavedra and M. Molina-Hernández, Clomipramine enhances the excitatory actions of dorsal raphe nucleus stimulation in lateral neurons in the rat, *Neuropsychobiology.* 27 (1993) 86-90.
- [7] C.M. Contreras, L. Chacón, M.L. Márvan and M.A. Guzmán-Sáenz, Amygdalar catecholaminergic input to septal nuclei, relation to clomipramine actions on lateral septal neurons in the rat, *Bol Estud Méd Biol Méx.* 40 (1992) 9-13.
- [8] C.M. Contreras, M. Molina-Hernández, M. Saavedra and L. Martínez-Mota, Lateral septal neuronal firing rate increases during proestrus-estrus in the rat, *Physiol Behav.* 68 (2000) 279-284.
- [9] C.M. Contreras, J.F. Rodríguez-Landa, A.G. Gutiérrez-García and B. Bernal-Morales, The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat, *J Psychopharmacol.* 15 (2001) 231-236.
- [10] W.E. Cullinan, J.P. Herman, D.F. Battaglia, .H. Akil and S.J. Watson, Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress, *Neuroscience.* 64 (1995) 477-505.
- [11] G.E. Duncan, G.R. Breese, H. Criswell, W.E. Stumpf, R.A. Mueller and J.B. Covey, Effects of antidepressant drugs injected into the amygdala on behavioral responses of rats in the forced swim test, *J Pharmacol Exp Ther.* 238 (1986) 758-62.
- [12] R.S. Duncan, K.B. Johsan and G.R. Breese, Topographic patterns of brain activity in response to swim stress: assessment by 2-deoxyglucose uptake and expression of fos-like immunoreactivity, *J Neurosci.* 13 (1993) 3932-3943.
- [13] F. Fonberg, Amygdala, depression and drug treatment, *Acta Physiologica Hungarica.* 74 (1989) 103-114.
- [14] M.E. Freeman, The ovarian cycle of the rat. In: E. Knobil E and J.D. Neill (Eds.), *The Physiology of Reproduction*, Vol. 2, Raven Press, New York, 1988, pp. 1893-1928.
- [15] E. Grauer and E. Thomas, Conditioned supresión of medial forebrain bundle and septal intracranial self-stimulation in the rat: evidence for a fear-relief mechanism of the septum, *J Com Physiol Psychol.* 90 (1982) 61-70.
- [16] A.G. Gutiérrez-García, C.M. Contreras, J.L. Díaz-Meza, B. Bernal-Morales, J.F. Rodríguez-Landa and M. Saavedra, Intraaccumbens dopaminergic lesion supresses desipramine effects in the forced Swim test but not in the neuronal activity of lateral septal nucleus, *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry.* 5856 (2003) *in press*.
- [17] D.R. Humphrey and E.M. Schmidt, Extracellular single-unit recording methods. In: A.A. Boulton, G.B. Baker and C.H. Vanderwolf (Eds.), *Neuromethods: Neurophysiological Techniques.* Vol. 15, Humana Press, Clifton N.J., 1990, pp. 1-64.
- [18] R.L. Jakab RL and C. Leranthe, Catecholaminergic, GABAergic, and Hippocamposeptal innervation of GABAergic somatospiny neurons in the rat lateral septal area, *J Comp Neurol.* 302 (1990) 305-321.
- [19] R.L. Jakab and C. Leranthe, Septum. In: G. Paxinos (Ed.), *The Rat Nervous System.* Academic Press, United States of American, 1995, pp. 593-596.
- [20] M. Jöels, M.J. Twery and J.P., Multiple actions of serotonin on lateral septal neurons in rat brain, *Eur J Pharmacol.* 129 (1986) 203-204.
- [21] L.G. Kirby, A.R. Allen and I. Lucki, Regional differences in the effects of forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid, *Brain Res.* 682 (1995) 189-196.

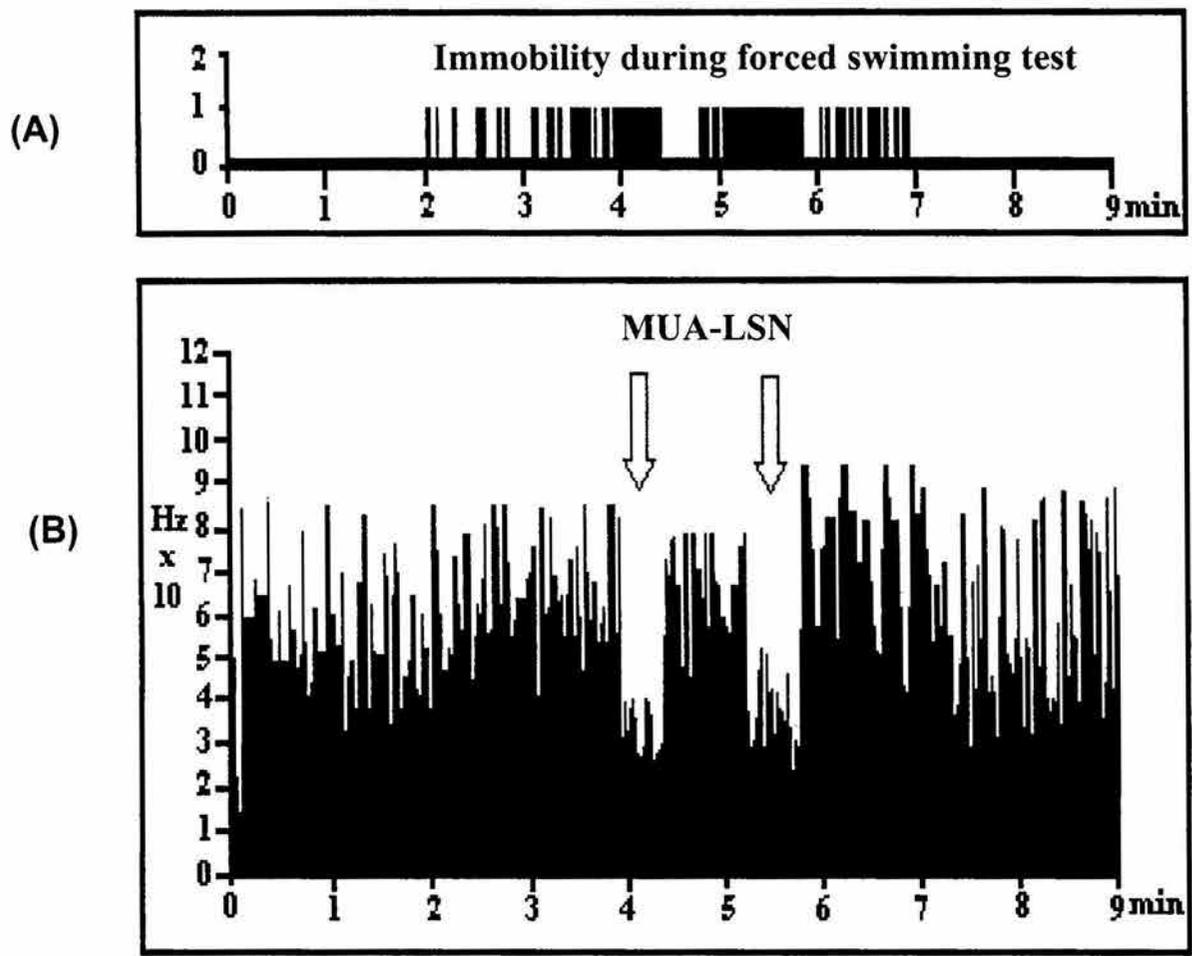
- [22] L.G. Kirby and I. Lucki, Interaction between the forced swimming test and fluoxetine treatment on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the rat, *J Pharmacol Exp Ther.* 282 (1997) 967-976.
- [23] Y. Kitada, T. Miyauchi, A. Satoh and S. Satoh, Effects of antidepressants in the rat forced swimming test, *Eur J Pharmacol.* 72 (1981) 145-152.
- [24] C. Köhler, V. Chan-Play and H. Steinbusch, The distribution and origin of serotonin-containing fibers in the septal area: A combined immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the rat, *J Comp Neurol.* 209 (1982) 91-111.
- [25] I. Lucki, A. Singh and D. Kreiss, Antidepressant-like behavioral effects of serotonin receptor agonists, *Neurosci Biobehav Rev.* 18 (1994) 85-95.
- [26] L. Martínez-Mota, C.M. Contreras, M. Saavedra, Progesterone reduces immobility in rats forced to swim, *Arch Med Res.* 30 (1999) 286-289.
- [27] J. Menard and D. Treit, Lateral and medial septal lesions reduce anxiety in the plus-maze and probe-burying test, *Physiol Behav.* 60 (1996) 845-853.
- [28] J. Menard and D. Treit, The anxiolytic effects of intra-hippocampal midazolam are antagonized by intra-septal L-glutamate, *Brain Res.* 888 (2001) 163-166.
- [29] National Institutes of Health. Guide for the care and use of laboratory animals. National Institutes of Health. National Academy Press, Washington DC, 1996.
- [30] J. Olds and P. Milner, Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain, *J Comp Physiol Psychol.* 47 (1954) 419-427.
- [31] G. Paxinos and C.H. Watson (Eds.), *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* Academic Press, New York, 1982.
- [32] R.D. Porsolt, L.M. Pichon and M. Jalfre, Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments, *Nature* 266 (1977) 730-732.
- [33] T. Sheehan and M. Numan, The septal region and social behavior. In: R. Numan (Ed.), *The Behavioral Neuroscience of the Septal Region*, Springer, New York, 2000, pp. 175-209.
- [34] T. Stratford and D. Wirtshafter, Ascending dopaminergic projections from the dorsal raphe nucleus in the rat, *Brain Res.* 611 (1990) 173-176.
- [35] E. Thomas, E. Yadin and C.E. Strickland, Septal unit activity during classical conditioning: a regional comparison, *Brain Res.* 547 (1991) 303-308.
- [36] E. Thomas and E. Yadin, Multiple unit activity in the septum during Pavlovian conditioning: evidence for an inhibitory role of the septum, *Exp Neurol.* 69 (1980) 50-60.
- [37] D. Treit, C. Pesord and S. Rotzinger, Dissociating the anti-fear effects of septal and amygdaloid lesions using two pharmacologically validated models of rat anxiety, *Behav Neurosci.* 107 (1993) 770-785.
- [38] G. Yadid, D.H. Overstreet and A. Zangen, Limbic dopaminergic adaptation to a stressful stimulus in a rat model of depression, *Brain Res.* 896 (2001) 43-47.
- [39] E. Yadin and E. Thomas, Septal correlates of conditioned inhibition and excitation, *J Comp Psychol.* 95 (1981) 331-340.
- [40] E. Yadin and E. Thomas, Stimulation of the lateral septum attenuates immobilization-induced stress ulcers, *Physiol Behav.* 59 (1996) 883-886.
- [41] E. Yadin, E. Thomas, H.L. Grishka and C.E. Strickland, The role of the lateral septum in anxiolysis, *Physiol Behav.* 53 (1993) 1077-1083.

Figure legends

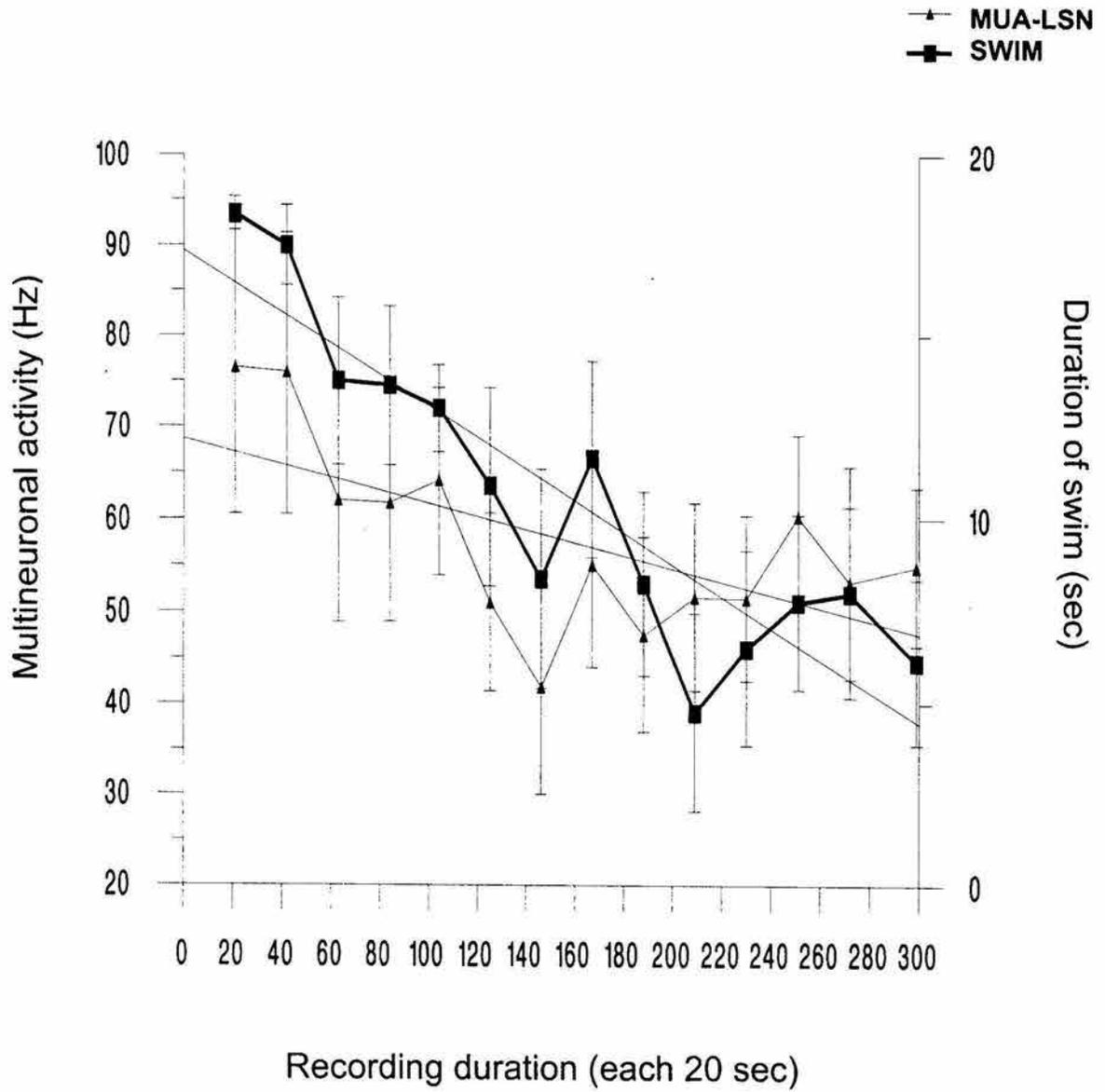
Fig 1. On-line multineuronal frequency histogram of the LSN of a rat submitted to forced swimming. (A) The bars in the upper graph indicate immobility periods and the bars in the lower graph (B) illustrate MUA-LSN. Arrows indicate the reduction in the MUA-LSN associated with relatively lower immobility periods. The first two minutes correspond to LSN basal activity, minutes 2 to 7 correspond to the 5 min of forced swimming, and the last two minutes correspond to the recording taken after forced swimming. Obviously, the recording stopped after the 2-min control and the 5-min forced swim, but was resumed immediately after the rat was placed in a safe-dry cage.

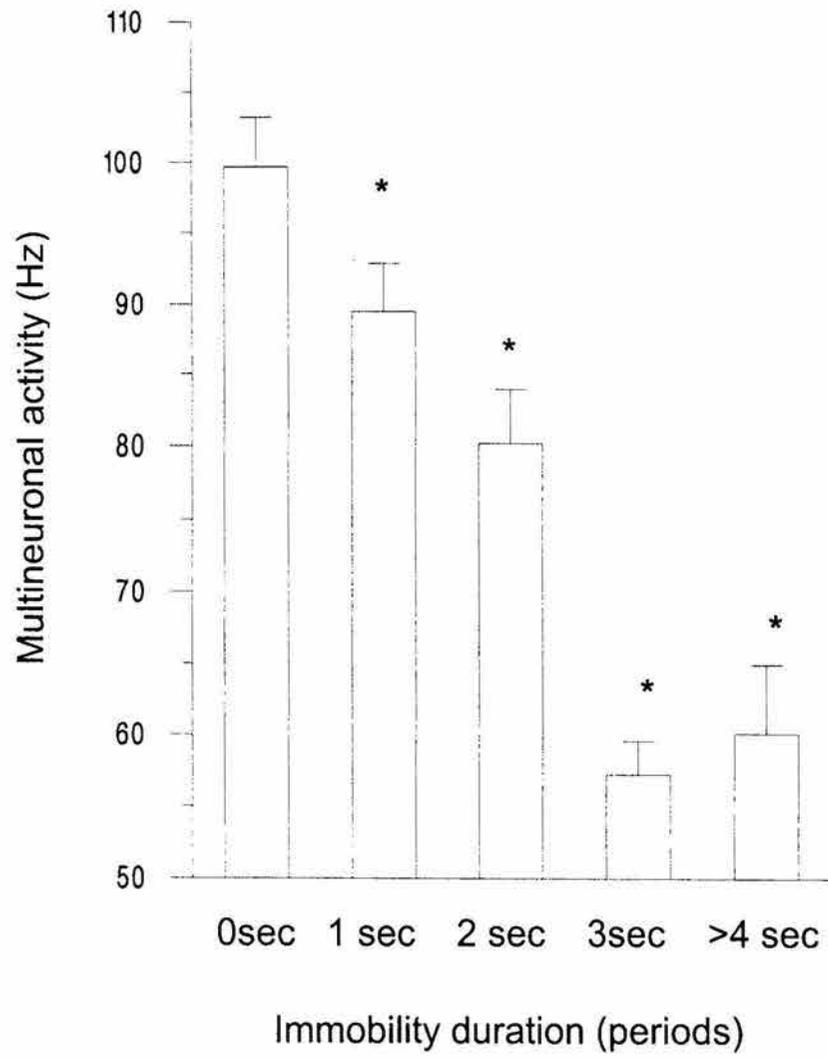
Fig 2. Lineal regression and correlation coefficient between the duration of swim periods (right ordinate) and MUA-LSN (left ordinate) through the 5-min test (abscissa). The swimming periods became shorter as the recording time elapsed and are correlated with a decrease in the MUA-LSN frequency of the LSN ($r=0.821$, $p<0.0003$).

Fig 3. The MUA-LSN decreased significantly when immobility periods became longer than ≥ 3 sec. * $p<0.05$ Student-Newman Keuls methods.



Correlation of MUA-LSN and duration of swim





APÉNDICE E

Gutiérrez-García AG, CM Contreras, JL Díaz-Meza, B Bernal-Morales, JF Rodríguez-Landa, M Saavedra (2003). Intraaccumbens dopaminergic lesion suppresses the effects of desipramine in the forced swim test but not in neuronal activity of lateral septal nucleus. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 27: 809-818

Intraaccumbens dopaminergic lesion suppresses desipramine effects in the forced swim test but not in the neuronal activity of lateral septal nucleus

Ana G. Gutiérrez-García, Carlos M. Contreras*, José Luis Díaz-Meza,
Blandina Bernal-Morales, Juan Francisco Rodríguez-Landa, Margarita Saavedra

Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, Mexico

Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Xalapa, Veracruz, Mexico

Accepted 22 April 2003

Abstract

The *nucleus accumbens* (NAcc) function is related to locomotor activity, while the lateral septal nucleus (LSN) is related to the motivational aspects of behavior. Thus, a dopaminergic lesion of the NAcc blocks the antiimmobility effect of desipramine (DMI) and this tricyclic increases the firing rate of the LSN; however, it is unknown whether a relation exists between a dopaminergic lesion of the NAcc and the response of LSN neurons to DMI treatment. Therefore, we conducted a longitudinal study to further explore the participation of NAcc dopaminergic terminals in the immobility reduction exerted by DMI in the forced swim test and its relation to the firing rate of the LSN, at the same time exploring motor and motivational aspects of DMI–dopaminergic relationships in the animals. A dopaminergic lesion was bilaterally produced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA) injection into the NAcc of adult ovariectomized Wistar rats pretreated with DMI (25 mg/kg ip, 30 min before lesion to protect NA terminals but to destroy DA endings). Treatments with DMI or saline began 24 h after stereotaxic surgery. The results showed that DMI once a day during 9 days (10 mg/kg) reduced immobility in the forced swim test in the sham-lesion group ($P < .02$); however, in the dopaminergic lesion group submitted to DMI treatment, immobility remained at control level in agreement with other reports. DMI increased the firing rate of the LSN ($P < .001$) independently of the 6-OHDA lesion. In conclusion, the dopaminergic terminals of the NAcc seem to be essential for the motor manifestation associated with motivation induced by DMI in the forced swim test, given that the antiimmobility actions of DMI are blocked after a dopaminergic NAcc lesion; however, the effect on the firing rate of LSN neurons is still present.

© 2003 Elsevier Science Inc. All rights reserved.

Keywords: Desipramine; Dopamine; Forced swim test; Lateral septal nucleus; Motivated behavior; Noradrenergic–dopaminergic interaction; Nucleus accumbens; 6-OHDA

1. Introduction

Immobility in the forced swim test is considered as a low emotional state (Porsolt et al., 1977) indicative of a gradual loss of motivation to escape resembling some of the clinical features of depression. Most of the known antidepressants reduce immobility by actions on catecholaminergic (Plaznik et al., 1985) and serotonergic (Renard et al., 2001) systems. Consequently, (a) the dopaminergic lesion of the

medial amygdaloid nucleus in the rat suppresses the anti-immobility effects of antidepressants (Górka et al., 1979; Araki et al., 1985); (b) the microinjection of noradrenaline (NA) or dopamine (DA) in the amygdala and the hippocampus or the nucleus accumbens (NAcc) decreases immobility (Plaznik et al., 1985); and (c) the long-term selective serotonin reuptake inhibitors treatment enhances the dopaminergic function (Tanda et al., 1994; Yamamoto and Novotney, 1998; Healy and McKeon, 2000; Renard et al., 2001). Therefore, the DA function seems to be finally affected regardless of the initial action of antidepressants (Willner et al., 1992; Lucki et al., 1994).

Desipramine (DMI) is a potent NA reuptake blocker (Charney et al., 1983), which increases the synaptic availability of NA in the NAcc (Brown et al., 1991) and the prefrontal cortex (Yamamoto and Novotney, 1998). Long-

Abbreviations: DA, dopamine; DMI, desipramine; LSN, lateral septal nucleus; NA, noradrenaline; NAcc, nucleus accumbens; 6-OHDA, 6-hydroxydopamine.

* Corresponding author. P.O. Box 320, Xalapa 91000, Veracruz, Mexico. Tel./fax: +52-228-8-13-51-57.

E-mail address: ccontreras@uv.mx (C.M. Contreras).

term treatment with this tricyclic increases the neuronal firing rate of the hippocampus (Huang, 1979) and the lateral septal nucleus (LSN) (Molina et al., 1996), two structures proposed as targets for antidepressant actions (Contreras et al., 1989; Marván et al., 1992). Likewise, DMI causes a functional subsensitivity in the α_2 adrenoreceptors (Charney et al., 1983) and supersensitivity in the postsynaptic DA receptors (Spyraki and Fibiger, 1981), thus facilitating dopaminergic neurotransmission in the NAcc (Nurse et al., 1985) and suggesting that the increase in NA levels in limbic structures, along with the extracellular increase of DA in the NAcc, might contribute to the expression of the motor action of antidepressants (Cervo et al., 1990). These results indicate that chronic treatment with antidepressants potentiates the behavioral responses mediated by the stimulation of postsynaptic D2 receptors in the mesolimbic system (Maj et al., 1989, 1996; Serra et al., 1990; Dziejzicka-Wasylewska et al., 1997).

The NAcc is thought to be important for the generation of motor responses to emotionally relevant environmental stimuli and in goal-directed and motivational behavior (Schultz et al., 1997). It is anatomically and functionally interconnected with the hippocampus, amygdala, lateral septum and prefrontal cortex (Loulot et al., 1989) as well as the subpallid region, which are all involved in the selection of motivated behavioral strategies (Scheel-Krüger and Willner, 1991). These structures have also been implicated in the actions produced by long-term antidepressant treatments (Spyraki and Fibiger, 1981; Plaznik et al., 1985; De Montis et al., 1990; Ichikawa and Meltez, 1995). In accord with the foregoing evidence, the aim of the present study consisted in determining—in the same experimental subject—the influence of a dopaminergic lesion to the NAcc on the effectiveness of DMI in reducing immobility in the forced swim test and increasing the neuronal firing rate of the LSN whose neuronal firing rate increases with drug and nondrug antidepressant treatments (Contreras et al., 1989).

2. Methods

2.1. Animals

We used 39 adult ovariectomized Wistar rats weighing 250–300 g at the beginning of the study. We selected ovariectomized females as experimental subjects because (a) females are the prime consumers of antidepressants (Weissman and Klerman, 1977); (b) the sexual dimorphism in depression and anxiety is well established, and the response to antidepressants has led us to assume that some aspects of the sensitivity to antidepressants depend on the level of steroidal hormones (Martínez-Mota et al., 2000); (c) ovariectomy does not produce any significant change in immobility in the forced swim test 2 weeks after surgery (Martínez-Mota et al., 1999); and (d) hormonal oscillations

during the estral cycle influence immobility in the forced swim test and neuronal activity of the LSN, i.e., higher levels of progesterone and estradiol (Freeman, 1988) are associated with lower immobility and higher firing rate in the LSN (Contreras et al., 2000).

It may be claimed that a better model would include intact female animals controlling estral phases; however, in the present study, they were submitted to stereotaxic surgery and a 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesion to the NAcc, which would affect estral cyclicity and vice versa (Thompson and Moss, 1997; Becker, 1999). An unpredictable length of time is required for regularization of cycle, and the regeneration of neuronal process after this kind of lesion takes no longer than 14 days (Wolterink et al., 1990). Hence, the best model for this experimental design proved to be ovariectomized rats.

The animals lived in housing facilities in Plexiglas cages (45 × 30 × 30 cm, 10 animals per cage), with a light/dark cycle of 12/12 h (lights on at 7:00 am), and access ad libitum to water and food. The experiments were carried out in accordance with the National Institute of Health's guide for the care and use of laboratory animals.

2.2. Surgery

Seven days after the ovariectomy, the animals were randomly assigned to one out of four experimental groups. A control group remained free of any surgical manipulation ($n=10$). In the sham-lesion group ($n=9$), the procedures and manipulations were identical to those employed in the lesion group ($n=20$) except for the substances injected into the NAcc. The lesion and sham-lesion groups received an injection of DMI HCl 30 min before stereotaxic surgery (25 mg/kg ip; Sigma, St. Louis, MO, USA) to prevent the destruction of noradrenergic nerve endings (Jonsson, 1980; Kostrzewa, 1989). The animals were anaesthetized with ethyl ether (J.T. Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, México) and then submitted to stereotaxic surgery. The NAcc was located in the following stereotaxic coordinates (Paxinos and Watson, 1982): AP=1.5 in front of bregma suture; L=±1.0; H=5.5–7.5 mm beneath the surface of the cerebral cortex. A small trephination was practiced and a bilateral stainless steel guide cannula (needle 22 gauge × 32 mm) was descended. By means of a manual micromanipulator (Stoelting 51218, Wood Dale, IL, USA) coupled to a Hamilton microsyringe, we injected 0.2 μ l/min/rat of substances at a constant rate through a sterile dental needle (27 gauge, 0.40-mm external diameter) introduced into the guide cannula. The sham-lesion group received a bilateral microinjection of 2 μ l of artificial cerebrospinal fluid (mM: 125 NaCl, 2.5 KCl, 2.0 CaCl₂, 2.0 MgSO₄, 25.0 NaHCO₃, 1.25 NaH₂PO₄, 11.0 glucose saturated with 95% of O₂, 5% CO₂; pH of 7.4) with 0.2% ascorbic acid added, and the lesion group received bilateral microinjections of 6-OHDA (Sigma) 8 μ g/2 μ l/rat dissolved in artificial cerebrospinal fluid with 0.2% ascorbic acid added.

2.3. Treatments

Twenty-four hours after surgery, saline solution (0.9% NaCl ip) was injected daily during 9 days in the control group (control-saline, $n=10$) and the lesioned group (lesion-saline, $n=10$). The sham-lesion group (sham-lesion-DMI, $n=9$) and another lesion group (lesion-DMI, $n=10$) received DMI HCl (10 mg/kg ip, in 0.2 ml) daily during 9 days. The last DMI injection was applied 2 h before the behavioral test. We decided not to include a sham-lesioned saline-treated group as a real control for the 6-OHDA-lesioned group because there are antecedents suggesting that no differences exist between a group of rats with a false lesion and a group of intact rats; whereas those animals lesioned with the neurotoxin display a series of detectable behavioral changes, e.g., those associated with locomotor hypoactivity (Winn and Robbins, 1985; Taghzouti et al., 1983; Kubos et al., 1987; Wolterink et al., 1990).

2.4. Behavioral tests

2.4.1. Open field test

In order to detect any association of immobility in the forced swim test with changes in motor activity (Wieland and Lucki, 1990), the number of times an animal crossed any square with its four paws (crossing) was evaluated in the open field test by using an opaque Plexiglas cage (44 × 33 × 20 cm) with the floor divided into twelve squares (11 × 11 cm). A 5-min pretest was carried out 24 h prior to a 5-min videotaped test session. After each test, the cage was carefully cleaned with a deodorant solution (0.5% ammoniac, 15% ethanol, 10% extran, 5% isopropanol, 10% pinol and 59.5% water). Immediately after the test session, the rats were submitted to the forced swim test.

2.4.2. Forced swim test

We used the forced swim test (Porsolt et al., 1977) with modifications in the size and shape of the pool (50 × 35 × 60 cm, rectangular) containing water at 25 ± 1 °C, 21–23 cm in depth depending on the length of the animal. Each rat was first submitted to a pretest despair-inducing session (15 min) discarded from data analysis. Twenty-four hours later, a 5-min videotaped test session was carried out. For statistical analysis, the duration of the behavioral activity, defined as all attempts to escape from the test pool, was subtracted from the 300 s of observation (Danysz et al., 1988). Immobility was assumed when nonvigorous movements allowed the animal to remain afloat and keep its head above the surface of the water without any displacement (Porsolt et al., 1977). Once the 5-min forced swim test was concluded, the animals were removed from the water and placed at room temperature in a cage with sawdust. About 30 min later, the rats were anaesthetized and submitted to stereotaxic surgery to obtain LSN single unit extracellular recordings. All the experiments were carried out between 9:00 and 10:00 a.m.

2.5. Single unit extracellular recording

The animals were anaesthetized with ethylcarbamate (urethane, 1 g/kg ip Sigma) followed by a tenth of this dose every 60 min to sustain deep anesthesia. The head of the animal was fixed in a stereotaxic frame (Stoelting) with the incisor bar set at -5.0 mm. The single unit extracellular recordings from the LSN were obtained by means of a glass micropipette filled with a solution of 1.0 M NaCl (5 M Ω). The micropipette was descended through a hydraulic micromanipulator (Trent Wells, So. Gate, CA) 3.00–5.00 mm beneath the surface of the cerebral cortex following the coordinates for the LSN AP=0.2 mm (in front of bregma); L=0.5 mm (from midline). The signal obtained by the

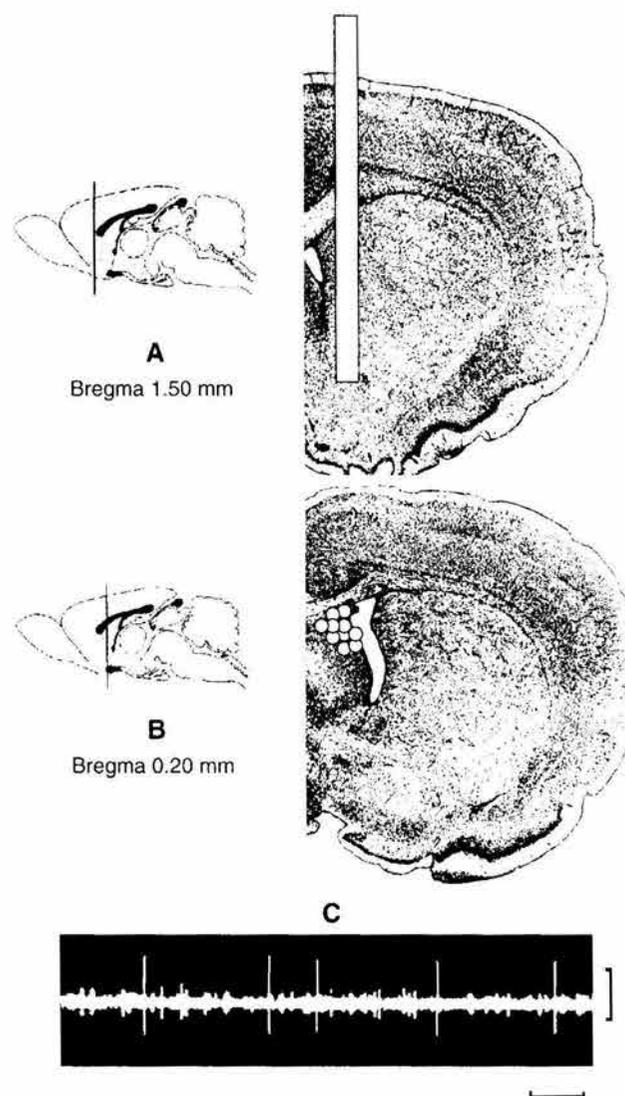


Fig. 1. Recording sites. (A) Representative scheme of a cerebral section from a rat in which the path of the microinjection cannula for the neurotrophic lesion of the NAcc (white bar) is illustrated. (B) Recording sites of the single unit extracellular activity in the lateral septal nucleus (white circles); and (C) trace of the single unit extracellular recording illustrating the typical activity of the lateral septal nucleus, 100 mV, 500 ms calibration.

recording micropipette was sent to a preamplifier (Grass P7511L, Quincy, MA, USA) with filters set at 300 Hz and 3 kHz connected in parallel to an oscilloscope (Tektronix 5111A, Beaverton, OR, USA). Each recorded spike coming from the amplifier fed a Grass S88 stimulator, which delivered a squared pulse of constant amplitude and duration (4 V, 1.2 ms) for each spike, was sent in parallel to an audioamplifier and to the serial port (RS232) of a PC. The firing rate was then analyzed on line for 9 min, and the software delivered firing rate histograms, mean and standard error of firing rate (10 s epochs) and the variation coefficient (the standard deviation divided by the mean firing rate). On the average, seven cells were recorded per rat.

At the end of the experiment, the last recorded site was marked by direct current (10 mA, 30 s each polarity). The rat was then perfused intracardially with 50 ml of 0.9% NaCl and thereafter with 20% formaldehyde. We only included data from recordings in which histology properly identified the tips of the microinjector cannula in the NAcc and the recording micropipette into the LSN.

2.6. Statistical analysis

Behavioral and electrophysiological data were analyzed by means of the two-way ANOVA. We considered surgery (control and lesion) and treatment (saline or DMI) as factors. The criterion of significance included only differences of $P < .05$ in which case the Student–Newman–Keuls was applied post hoc. The results are represented as the mean \pm S.E.

3. Results

The histological analysis (Fig. 1) showed that majority of the 29 implanted cannulae were located within the core portion of the NAcc. Six animals were eliminated from the analysis due to erroneous microinjection site placement. The location of the lesion site was verified both macroscopically and by simple histological techniques. The gross morphological changes associated with the NAcc lesion indicated the presence of a hypotrophy accompanied by an apparent dilation of lateral ventricles.

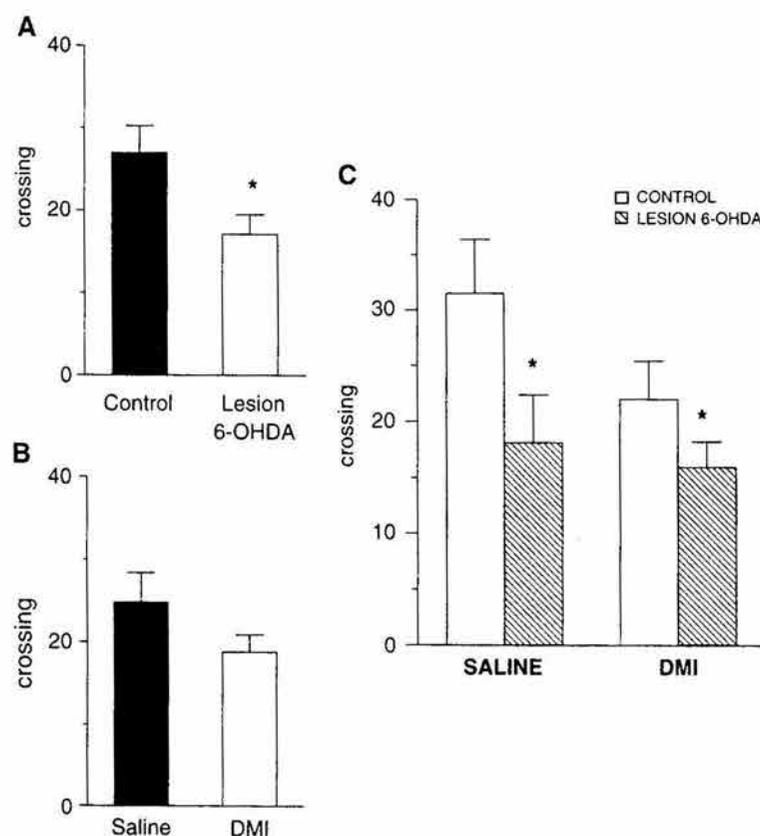


Fig. 2. Open field test. (A) Net effect of lesion. The lesion to the dopaminergic terminal of the NAcc caused a lowered crossing [$F_{6\text{-OHDA}(1,35)} = 6.108$, $P < .01$] of the animals ($n = 20$) as compared with the control animals ($n = 19$), * $P < .05$ versus control groups (Student–Newman–Keuls's method). (B) Net effect of treatment. No significant differences [$F_{\text{Treatment}(1,35)} = 2.18$, $P < .148$, *ns*] were observed associated with the DMI factor (saline groups, $n = 20$, and DMI groups, $n = 19$). (C) The lesion-saline and lesion-DMI-treated groups displayed the lowest crossing [$F_{6\text{-OHDA} \times \text{Treatment}(1,35)} = 0.88$, $P < .35$, *ns*] but no differences were observed in between.

3.1. Behavioral study

3.1.1. Open field test

Only the surgery factor (6-OHDA lesion) significantly influenced locomotor activity [$F(1,35)=6.10$, $P<.01$]. In the lesioned groups (17.1 ± 2.3 , $n=20$), a reduced crossing was observed as compared to control groups (27.0 ± 3.2 , $n=19$) tested on the 10th day after lesion. The lesion-saline group displayed 43% of the crossings observed in the control-saline group (Fig. 2A). A similar trend was observed in the DMI-treated groups. In short, the 6-OHDA lesion significantly ($P<.05$) reduced crossing; DMI also reduced crossing, but did not reach the criterion of significance (Fig. 2B). The 6-OHDA-lesioned animals displayed low crossing but no motor alterations such as motor asymmetry, tremor in the limbs, rotation or circling were detected. In addition, both groups with lesions in the NAcc (247.3 ± 5.81 lesion-saline group and 239.8 ± 8.15 lesion-DMI group) regained weight in a manner identical

to the sham-lesion rats (236.9 ± 7.73 control-saline group and 235.5 ± 6.14 sham-lesion-DMI group) regardless of DMI treatment, in accord with other reports (Winn and Robbins, 1985).

3.1.2. Forced swim test

The global effect of the 6-OHDA lesion did not reach the criterion of significance for influencing immobility in the forced swim test (Fig. 3A); however, the analysis of the treatment factor (Fig. 3B) did reach the criterion of significance [$F(1,35)=7.87$, $P<.008$] but, as interaction analysis illustrated (Fig. 3C), at the expense of a reduced immobility only for the DMI-treated sham-lesion group as compared to the other groups [$F(1,35)=5.74$, $P<.02$]. Thus, the sham-lesion-DMI group displayed a lower total time of immobility as compared with the control-saline group ($P<.001$). There were no significant differences between the lesion-saline group and the lesion-DMI group.

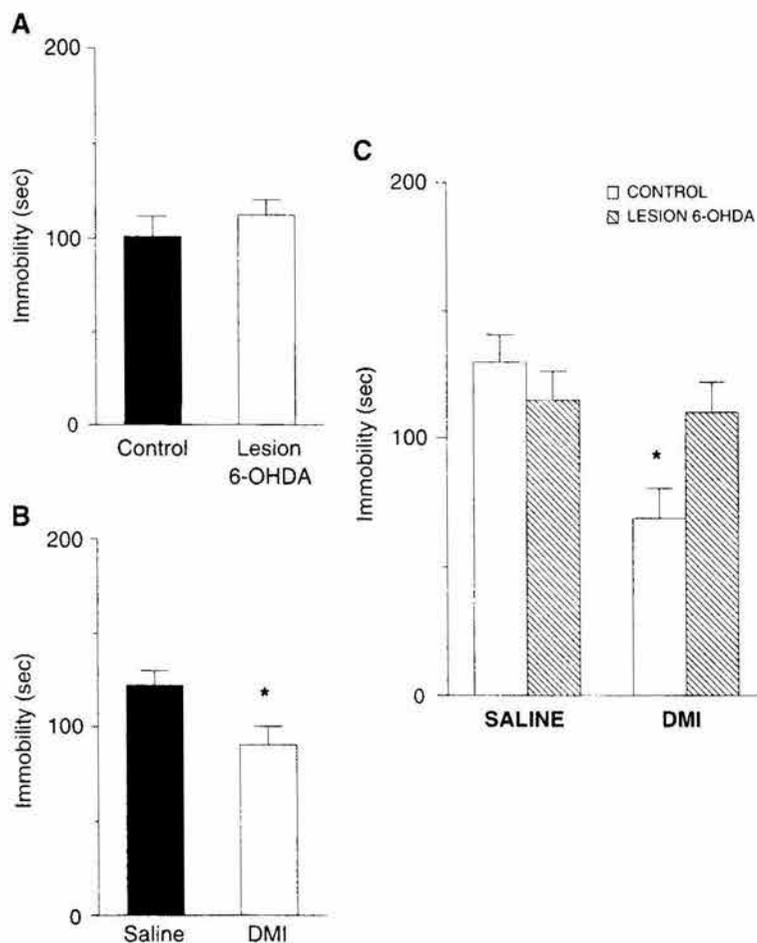


Fig. 3. Forced swim test: total time of immobility. (A) 6-OHDA lesion failed to produce differences in the total time of immobility [$F_{6\text{-OHDA}}(1,35)=1.22$, $P<.277$, *ns*]; control groups, $n=19$; lesion groups, $n=20$. (B) Net effect of treatment. DMI ($n=19$) reduced the total time of immobility [$F_{\text{treatment}}(1,35)=7.87$, $P<.008$] as compared to saline groups ($n=20$), * $P<.05$ Dunnett's method. (C) Sham-lesion-DMI group ($n=9$) displayed a lower total time of immobility [$F_{6\text{-OHDA} \times \text{Treatment}}(1,35)=5.74$, $P<.02$] when compared with control-saline group ($n=10$), * $P<.05$, Student–Newman–Keuls's method.

3.2. LSN firing rate

3.2.1. Single unit extracellular recording

We recorded a mean of seven LSN neurons in each rat for a total amount of 252 recordings (control-saline group, $n=54$; sham-lesion-DMI group, $n=77$; lesion-saline group, $n=76$ and lesion-DMI group, $n=45$). General results illustrate that we recorded a similar sample of LSN neurons for each group since histological reconstruction of the path followed by electrodes showed that (a) all recordings were made between 3.0 and 5.0 mm beneath the cortical surface; (b) the mean amplitude of spiking was $143.7 \mu\text{V} (\pm 2.33)$; and (c) the variation coefficient proved to be similar among the four groups: control-saline 36.9% (± 1.7), sham-lesion-DMI 44.0% (± 1.15), lesion-saline 48.3% (± 2.61), lesion-DMI 41.9% (± 1.78).

The NAcc lesion increased the spontaneous firing rate significantly [$F(1,248)=6.45$, $P<.01$, $n=121$], roughly by 21%, and DMI treatment, independently of lesion, further increased the firing rate by about 32% [$F(1,248)=10.67$, $P<.001$, $n=122$]. The interaction factor failed to reach the criterion of significance (Fig. 4).

The two-way analysis of variance of the individual mean firing rate (pooling all recorded neurons per rat) showed that

the surgery factor did not modify the firing rate [$F(1,35)=2.54$, $P<.12$, ns] in the lesioned groups. The treatment factor, however, significantly modified the neuronal firing rate on the LSN [$F(1,35)=5.29$, $P<.02$] in DMI-treated animals; the interaction factor did not prove to be significant [$F(1,35)=0.13$, $P<.71$, ns]. The Student–Newman–Keuls analysis post hoc confirmed the analysis of data using the individual neurons recorded, i.e., DMI significantly increased the neuronal activity of the LSN, regardless of the 6-OHDA NAcc lesion.

4. Discussion

The aim of this study consisted in determining the participation of NAcc dopaminergic terminals in the effects of DMI on the forced swim test as well as on the firing rate of the LSN. The lesion to NAcc dopaminergic terminals reduced spontaneous crossing and canceled the DMI-induced antiimmobility effect in the forced swim test, but it did not affect the increased neuronal firing rate of the LSN produced by the administration of DMI. Regarding the ethical point of view, the behavioral models used in our study have been employed by various researchers from 1977

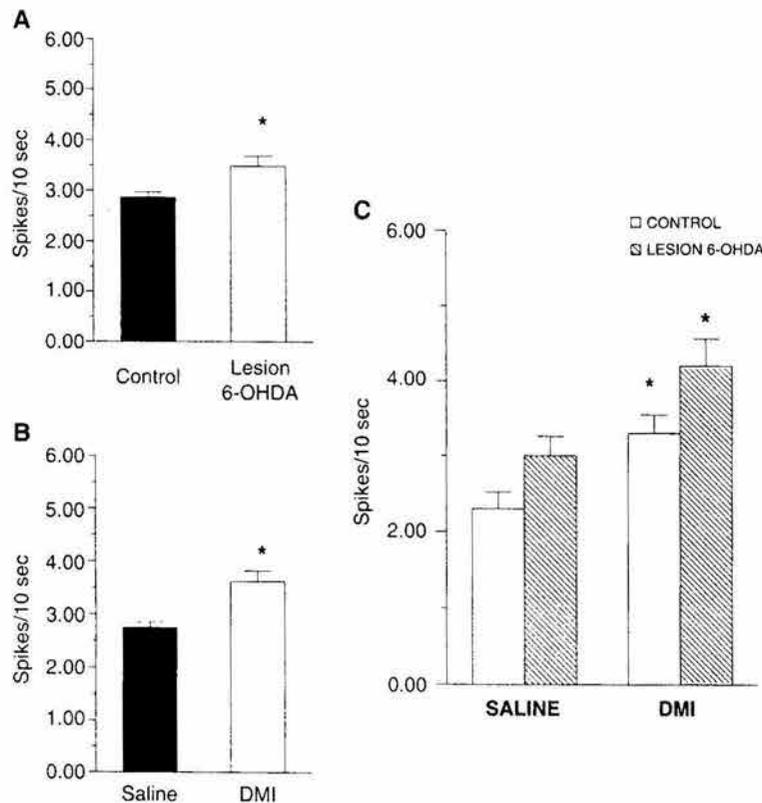


Fig. 4. Firing rate (ordinate) of the lateral septal nucleus in the different groups under treatment (abscissa). (A) Net effect of lesion. The NAcc lesion ($n=20$) increased the spontaneous firing rate significantly [$F_{6\text{-OHDA}}(1,248)=6.451$, $P<.01$] as compared with control groups ($n=19$), * $P<.05$ (Student–Newman–Keuls's method). (B) Net effect of DMI treatment, which increased [$F_{\text{treatment}}(1,248)=10.67$, $P<.001$] firing rate of the LSN ($n=19$); * $P<.05$ versus saline group ($n=20$), Student–Newman–Keuls's method. (C) Note the increase of the neuronal firing rate in the groups treated with DMI independently of the 6-OHDA lesion to the NAcc [$F_{6\text{-OHDA} \times \text{treatment}}(1,248)=0.09$, $P<.76$, ns].

up to the present (Porsolt et al., 1977; Borsini et al., 1985; Cervo and Samanin, 1987; Cervo et al., 1990; Contreras et al., 2001) and so has the single-unit extracellular recording (Contreras et al., 1989, 2001). Besides, all the animals were handled gently and were never submitted to any suffering beyond the requirements of the hypothesis. Likewise, we used profound anesthesia (urethane) for single-unit extracellular recording and a local anesthetic during surgery at all those points where the stereotaxic frame made contact with the animal, such as the auditory meatuses, for example. Lastly, the experiments were carried out in accordance with the National Institute of Health's guide for the care and use of laboratory animals.

We found that the NAcc 6-OHDA lesion blocks the effect of DMI on immobility, but the LSN firing rate remains unchanged. Some masking action may be claimed as a consequence of submitting rats to extracellular single unit recordings after being previously forced to swim. In fact, this experimental sequence reduces the LSN firing rate by about 50% (unpublished observations); however, we followed the same experimental sequence for all groups, precisely to cancel such actions on the firing rate.

6-OHDA is a largely explored neurotoxin (Uretsky and Iversen, 1970) that destroys both noradrenergic and dopaminergic endings when applied alone but destroys only dopaminergic endings when animals are pretreated with an NA-reuptake blocker, i.e., DMI (Kostrzewa, 1989). However, the behavioral consequences of a 6-OHDA lesion depend on the extent and time of the lesion. For instance, the almost total destruction of DA terminals in the central nervous system leads to gross behavioral alterations lasting at least 3 weeks (Wolterink et al., 1990); but thereafter a complete recovery is observed due to neurochemical compensations in the residual dopaminergic nerve terminals (Zigmond et al., 1984) and to an increased DA turnover rate, supersensitivity of postsynaptic receptors, reinnervation, or suppression of functionally antagonistic structures (Angulo et al., 1991). In addition, 6-OHDA lesions to the NAcc markedly reduced DA, dihydroxyphenylacetic acid and homovanillic acid contents in the NAcc by about 20–40% (Fink and Smith, 1979; Winn and Robbins, 1985; Cervo et al., 1990) reaching maximum effects 7 days after the lesion (Wolterink et al., 1990). Consequently, the bilateral injection of 6-OHDA into the NAcc induces motor hypoactivity between 7 and 14 days after the lesion as compared to sham-lesioned animals (Taghzouti et al., 1985; Wolterink et al., 1990); thus, a suitable timing for exploring the action of the 6-OHDA lesion falls between 7 and 21 days after lesion. Although we did not collect any neurochemical or histological evidence of dopaminergic damage, we collected data from the animals 9 days after the 6-OHDA lesion, i.e., before any recovery process became evident, and we observed a reduced crossing in the open field test without ostensible alterations in motion; therefore, from a behavioral point of view, our results must be due to an effective lesion of the NAcc.

In regard to the selective destroying of NAcc dopaminergic endings, it has long been accepted that a greater selectivity of 6-OHDA for dopaminergic fibers is attained by pretreatment of the animals with an NA reuptake inhibitor, such as DMI or protriptyline (Evetts and Iversen, 1970). DMI and imipramine inhibit the depletion of NA produced by 6-OHDA but do not alter the depletion of dopamine (Breese and Traylo, 1971). Greater destruction of dopaminergic neurons is also promoted by treatment with a MAO inhibitor, such as pargyline, prior to 6-OHDA (Breese and Traylo, 1970, 1971). In our study, we pretreated animals with a NA-reuptake inhibitor such as DMI 30 min before 6-OHDA lesion in accord with the well-known method by Jonsson (1980) and Kostrzewa (1989). Therefore, even though we did not attain any histochemical control, our assumptions are based on accepted literature.

DMI reduces immobility (Porsolt et al., 1977; Danysz et al., 1988; Detke et al., 1995) and increases the neuronal firing rate of the LSN (Molina et al., 1996) when acutely administered (only one injection); however, clinical effects are commonly observed only after several weeks of treatment. The actions of either clomipramine (another tricyclic) or fluoxetine (Contreras et al., 1990, 2001) increase the LSN firing rate after the first administration, but these changes become remarkable after 2 weeks of treatment; therefore, it seems to be acceptable that the effects of acute administration of at least clomipramine or fluoxetine are representative of initial effects. In order to avoid doubts as to the validity of our results, in the present study, we applied DMI during 9 days with two objectives: first, to explore a long-term effect, and second to avoid exceeding the limit of 2 weeks, the time after which the regeneration process of NA axon terminals begins after a 6-OHDA lesion (Nakamura, 1990).

The DA systems in the NAcc play a prominent role in the mechanisms that mediate motor behavior (Kubos et al., 1987). The injection of DA agonists directly into the NAcc produces strong motor hyperactivity (Kelley et al., 1989), and the motor-stimulating effect of d-amphetamine or apomorphine can be blocked by injecting DA blocking agents into the NAcc (Spyraki and Fibiger, 1981). However, the goal-directed behavior seems to occur under the influence of dopaminergic endings in the NAcc, that is, the administration of sulpiride into the NAcc antagonizes the DMI effect in the forced swim test (Cervo and Samanin, 1987). The results of the present study agree with those reported by other authors (Cervo et al., 1990) indicating that the dopaminergic lesion with 6-OHDA to the NAcc significantly reduces the antiimmobility effects of DMI in the forced swim test. Therefore, it is likely that the dopaminergic terminals of the NAcc are essential for the reduced immobility exerted by DMI to manifest itself in the forced swim test.

The NAcc receives a DA input from the LSN (Louilot et al., 1989). The blockage of the septal efferents by tetrodotoxin induces a marked increase in dopaminergic metabolism in the NAcc, which suggests that dopaminergic transmission

in the NAcc is regulated by an inhibitory septofugal pathway (Louilot et al., 1989). However, since the projections of the NAcc toward the LSN are scant at best (Heimer et al., 1991), both NAcc and LSN may be considered two independent systems connected only by dopaminergic fibers coming from the tegmental area. Therefore, it must be expected that any actions of DMI on the LSN and the NAcc follow simultaneous but parallel processes; in such a case, destroying dopaminergic terminals in the NAcc must lead to alterations in locomotion and also in structures associated with motivation, for instance the LSN. This is exactly what happened. DMI treatment evenly increased the firing rate in LSN neurons but failed to reduce immobility in the forced swim.

In our study, we observed that the actions of DMI on the LSN remained even after the 6-OHDA NAcc lesion, which suggests that the increased firing rate exerted by DMI on the LSN is independent of the NAcc dopaminergic function. In fact, Willner et al. (1992) have proposed that the NAcc represents a common final path for antidepressant actions. In such a case, the LSN, among other limbic structures where antidepressants exert their actions, requires the NAcc to integrate and to send the information toward the mesencephalic locomotor region, which then establishes direct and indirect connections to different spinal cord levels (Kelley et al., 1989) leading to the motor manifestation of antidepressant actions. This suggests that there exists a common end point for the motivated behavior manifestation associated with antidepressant treatment, which necessarily implies a motor component located in the NAcc (Plaznik et al., 1985; Cervo and Samanin, 1987; Cervo et al., 1990; Willner et al., 1992). However, there is a need for further studies for the comparing of other antidepressants, including the selective serotonin-reuptake inhibitors, in order to arrive at a generalization to determine the participation of the NAcc in motivational aspects associated with the antiimmobility effects of antidepressants in the forced swimming test.

5. Conclusions

It has been consistently reported that some experimental actions of antidepressants are as follows: no changes or reduced locomotor activity (Porsolt et al., 1977; Wieland and Lucki, 1990; Contreras et al., 1998), lowered immobility in the forced swim test (Porsolt et al., 1977; Borsini et al., 1985; Cervo and Samanin, 1987; Danyasz et al., 1988; Detke et al., 1995) and increased neuronal firing rate in the LSN (Contreras et al., 1989, 2001; Molina et al., 1996). Consequently, we conclude that the destruction of DA terminals in the NAcc only blocks the antiimmobility effect of DMI, suggesting that the NAcc should be intact so that the motor expression of the motivational processes induced by DMI may occur, at least in the adult ovariectomized rat.

Acknowledgements

The authors wish to thank Warren Haid and Irene Marquina for revising the manuscript. During this investigation, AGG-G, JFR-L and BB-M received fellowships from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, México) Reg. 150023, 124885, 124657, respectively. A partial support from the Dirección General de Estudios de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-UNAM) was received.

References

- Angulo, J.A., Coirini, H., Ledoux, M., Shumacher, M., 1991. Regulation by dopaminergic neurotransmission of dopamine D2 mRNA and receptor levels in the striatum and nucleus accumbens of the rat. *Mol. Brain Res.* 11, 161–166.
- Araki, H., Kawashima, K., Uchiyama, Y., Aihara, H., 1985. Involvement of amygdaloid catecholaminergic mechanisms in suppressive effects of desipramine and imipramine on duration of immobility in rats forced to swim. *Eur. J. Pharmacol.* 113, 313–318.
- Becker, J.B., 1999. Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 64 (4), 803–812.
- Borsini, F., Pulvirenti, L., Samanin, R., 1985. Evidence of dopamine involvement in the effect of repeated treatment with various antidepressants in the behavioural despair test in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 110, 253–256.
- Breese, G.R., Traylo, T.D., 1970. Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine: evidence for selective degeneration of catecholamine neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 174, 413–420.
- Breese, G.R., Traylo, T.D., 1971. Depletion of brain noradrenaline and dopamine by 6-hydroxydopamine. *Br. J. Pharmacol.* 42, 88–99.
- Brown, E.E., Nomikos, G.G., Wilson, C., Fibiger, H.C., 1991. Chronic desipramine enhances the effect of locally applied amphetamine on interstitial concentration of dopamine in the nucleus accumbens. *Eur. J. Pharmacol.* 202, 125–127.
- Cervo, L., Samanin, R., 1987. Evidence the dopamine mechanisms in the nucleus accumbens are selectively involved in the effect of desipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology* 26, 1469–1472.
- Cervo, L., Grignaschi, G., Samanin, R., 1990. The role of the mesolimbic dopaminergic system in the desipramine effect in the forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.* 178, 129–133.
- Charney, D.S., Henniger, G.R., Sternberg, D.E., 1983. Alpha-2 adrenergic receptor sensitivity and the mechanisms of action of antidepressant therapy. *Br. J. Psychiatry* 142, 265–275.
- Contreras, C.M., Alcalá-Herrera, V., Márvan, M.L., 1989. Action of antidepressants on the septal nuclei of the rat. *Physiol. Behav.* 46, 793–798.
- Contreras, C.M., Marván, M.L., Alcalá, V., Guzmán-Sáenz, M.A., 1990. Chronic clomipramine increases firing rate in lateral septal nuclei of the rat. *Physiol. Behav.* 48, 551–554.
- Contreras, C.M., Martínez-Mota, L., Saavedra, M., 1998. Desipramine restricts estral cycle oscillations in swimming. *Progr. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 226, 1121–1128.
- Contreras, C.M., Molina, M., Saavedra, M., Martínez-Mota, L., 2000. Lateral septal neuronal firing rate increases during proestrus–estrus in the rat. *Physiol. Behav.* 68, 279–284.
- Contreras, C.M., Rodríguez-Landa, J.F., Gutiérrez-García, A.G., Bernal-Morales, B., 2001. The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *J. Psychopharmacol.* 15, 231–236.

- Danysz, W., Plaznik, A., Kostowski, W., Malatynska, E., Järbe, T.U., Hiltunen, A.J., Archer, T., 1988. Comparison of desipramine, amitriptyline, zimeldine and alaproclate in six animal models used to investigate antidepressant drugs. *Pharmacol. Toxicol.* 62, 42–50.
- De Montis, G.M., Devoto, P., Gessa, G.L., Meloni, D., Porcella, A., Saba, P., Serra, G., Tagliamonte, A., 1990. Central dopaminergic transmission is selectively increased in the limbic system of rats chronically exposed to antidepressants. *Eur. J. Pharmacol.* 180, 31–35.
- Detke, M.J., Rickels, M., Lucki, I., 1995. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl.)* 121, 66–72.
- Dziedzicka-Wasylewska, M., Rogoz, R., Klimek, V., Maj, J., 1997. Repeated administration of antidepressant drugs affects the levels of mRNA coding for D1 and D2 dopamine receptors in the rat brain. *J. Neural Transm.* 104, 515–524.
- Evetts, K.D., Iversen, L.L., 1970. Effects of protriptyline on the depletion of catecholamines induced by 6-hydroxydopamine in the brain of the rat. *J. Pharm. Pharmacol.* 22, 540–543.
- Fink, J.S., Smith, G.P., 1979. Decreased locomotor and investigatory exploration after denervation of catecholamine terminal fields in the fore-brain of rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 93, 34–65.
- Freeman, M.E., 1988. The ovarian cycle of the rat. In: Knobil, E., Neil, J. (Eds.), *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York, pp. 1893–1912.
- Górka, Z., Ossowska, K., Stach, R., 1979. The effect of unilateral amygdala lesion on the imipramine action in behavioral despair in rats. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 31, 647–648.
- Healy, E., McKeon, P., 2000. Dopaminergic sensitivity and prediction of antidepressant response. *J. Psychopharmacol.* 14 (2), 152–156.
- Heimer, L., Zahm, D.S., Churchill, L., Kalivas, P.W., Wohltmann, C., 1991. Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience* 41, 89–125.
- Huang, Y.H., 1979. Net effect of acute administration of desipramine on the locus coeruleus-hippocampal system. *Life Sci.* 25, 739–746.
- Ichikawa, J., Meltz, H.Y., 1995. Effect of antidepressants on striatal and accumbens extracellular dopamine levels. *Eur. J. Pharmacol.* 281 (3), 255–261.
- Jonsson, G., 1980. Chemical neurotoxins as denervating tools in neurobiology. *Annu. Rev. Neurosci.* 3, 169–187.
- Kelley, A.E., Cador, M., Stimus, L., 1989. Exploration and its measurement: a psychopharmacological perspective. In: Boulton, A.A., Baker, G.B., Greenhawe, A.J. (Eds.), *Neurochemical Methods in Psychopharmacology*, vol. 13. Humana Press, New Jersey, pp. 95–135.
- Kostrzewa, R.M., 1989. Neurotoxins that affect central and peripheral catecholamine neurons. In: Boulton, A.A., Baker, G.B., Jourio, A.V. (Eds.), *Drugs as Tools in Neurotransmitter Research*. Neurochemical Methods, vol. 12. Humana Press, New Jersey, pp. 1–48.
- Kubos, K.L., Timothy, H.M., Robinson, R.G., 1987. Differential and asymmetrical behavioral effects of electrolytic or 6-hydroxydopamine lesions in the nucleus accumbens. *Brain Res.* 401, 147–151.
- Louilot, A.M., Le Moal, M., Simon, H., 1989. Opposite influences of dopaminergic pathways to the prefrontal cortex or the septum on the dopaminergic transmission in the nucleus accumbens. An *in vivo* voltametric study. *Neuroscience* 29 (1), 45–56.
- Lucki, I., Singh, A., Kreiss, D., 1994. Antidepressant-like behavioral effects of serotonin receptor agonists. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 18 (1), 85–95.
- Maj, J., Papp, M., Skuza, G., Bigajska, K., Zazula, M., 1989. The influence of repeated treatment with imipramine, (+)- and (–)-oxaprotyline on behavioural of dopamine D-1 and D-2 agonist. *J. Neural Transm.* 76, 28–38.
- Maj, J., Dziedzicka-Wasylewska, M., Rogoz, R., Rogoz, Z., Skuza, G., 1996. Antidepressant drugs given repeatedly change the binding on the dopamine D2 receptor agonist, [³H]-N-0437, to dopamine D2 receptors in the rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 304, 49–54.
- Martínez-Mota, L., Contreras, C.M., Saavedra, M., 1999. Progesterone reduces immobility in rats forced to swim. *Arch. Med. Res.* 30, 286–289.
- Martínez-Mota, L., Estrada-Camarena, E., López-Ruvalcaba, C., Contreras, C.M., Fernández-Guasti, A., 2000. Interaction of desipramine with steroid hormones on experimental anxiety. *Psychoneuroendocrinology* 25, 109–120.
- Marván, M.L., Guzmán-Sáenz, M.A., Barradas, J.A., Contreras, C.M., 1992. Septal neurons related with hippocampus increase their firing rate after long-term clomipramine actions. *Bol. Estud. Méd. Biol.* 40, 15–20.
- Molina, M., Díaz-Meza, J.L., Saavedra, M., Ortiz, M., Contreras, C.M., 1996. Raphe-septal neuron changes in sensitivity to desipramine following an early septal lesion in the rat. *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 20, 1427–1434.
- Nakamura, S., 1990. Antidepressants induce regeneration of catecholaminergic axon terminals in the rat cerebral cortex. *Neurosci. Lett.* 111, 64–68.
- Nurse, B., Russell, V.A., Taljaard, J.J., 1985. Effect of chronic desipramine treatment on adrenoceptor modulation of [³H] dopamine release from rat nucleus accumbens slices. *Brain Res.* 334, 235–242.
- Paxinos, G., Watson, C.H., 1982. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, New York.
- Plaznik, A., Danysz, W., Kostowski, W., 1985. A stimulatory effect of intraaccumbens injections of noradrenaline on the behavior of rats in the forced swim test. *Psychopharmacology* 87, 119–123.
- Porsolt, R.D., Pichon, L.M., Jalfre, M., 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732.
- Renard, C.D., Fiocco, A.J., Clenet, F., Hascoet, M., Bourin, M., 2001. Is dopamine implicated in the antidepressant-like effects of selective serotonin reuptake inhibitors in the mouse forced swimming test? *Psychopharmacology* 159, 42–50.
- Scheel-Krüger, J., Willner, P., 1991. The mesolimbic system: principles of operation. In: Willner, P., Scheel-Krüger, J. (Eds.), *The Mesolimbic Dopamine System: From Motivation to Action*. Wiley, Chichester, pp. 559–597.
- Schultz, W., Dayan, P., Montague, G.A., 1997. A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275, 1593–1599.
- Serra, G., Collu, M., D'Aquila, P.S., De Montis, G.M., Luigi-Gessa, G., 1990. Possible role of dopamine D1 receptor the behavioural supersensitivity dopamine agonists induced by chronic treatment with antidepressants. *Brain Res.* 527, 234–243.
- Spyraki, C., Fibiger, H.C., 1981. Behavioural evidence for supersensitivity of postsynaptic dopamine receptors in the mesolimbic system after chronic administration of desipramine. *Eur. J. Pharmacol.* 74, 95–206.
- Taghzouti, K., Simon, H., Louilot, A., Hermn, J., Le Moal, P., 1985. Behavioral study after local injection of 6-Hydroxydopamine into the nucleus accumbens in the rat. *Brain Res.* 344, 9–20.
- Tanda, G., Carboni, E., Frau, R., Di Chiara, G., 1994. Increase of extracellular dopamine in the prefrontal cortex: a trait of drugs with antidepressant potential? *Psychopharmacology* 115, 285–288.
- Thompson, T.L., Moss, R.L., 1997. Modulation of mesolimbic dopaminergic activity over the rat estrous cycle. *Neurosci. Lett.* 229 (3), 145–148.
- Uretsky, N.J., Iversen, L.L., 1970. Effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine containing neurons in rat brain. *J. Neurochem.* 17, 269–278.
- Weissman, M.M., Klerman, G.L., 1977. Sex differences and the epidemiology of depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 34, 98–111.
- Wieland, S., Lucki, I., 1990. Antidepressant-like activity of 5-HT1A agonist measured with the forced swim test. *Psychopharmacology* 101, 497–504.
- Willner, P., Muscat, R., Papp, M., 1992. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 167, 525–534.
- Winn, P., Robbins, T.W., 1985. Comparative effects of infusions of 6-hydroxydopamine into nucleus accumbens and anterolateral hypothalamus induced by 6-hydroxydopamine on the response to dopamine agonists, body weight, locomotion activity and measured exploration in rat. *Neuropharmacology* 24, 25–31.

- Wolterink, G., Zanten, E.V., Kamsteeg, H., Radhakishun, F.S., Van Ree, J.M., 1990. Functional recovery after destruction of dopamine systems in the nucleus accumbens of rats: I. Behavioral and biochemical studies. *Brain Res.* 507, 92–100.
- Yamamoto, B.K., Novotney, S., 1998. Regulation of extracellular dopamine by the norepinephrine transporter. *J. Neurochem.* 71, 274–280.
- Zigmond, M.J., Acehson, A.L., Stowiak, M.K., Stricker, E.M., 1984. Neurochemical compensation after nigrostriatal bundle injury in an animal model of preclinical Parkinsonism. *Arch. Neurol.* 41, 856–861.

APÉNDICE F

Gutiérrez-García AG, CM Contreras, JL Díaz-Meza (2000). Cómo actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central. *Salud Mental* 23 (2):42-48.

salud mental

Volumen 23

Número 2

Abril del 2000

Contenido

- TRABAJOS DE INVESTIGACION
- 1 **La discriminación del efecto de las drogas y la conciencia animal.** José L. Díaz
- 8 **Proyecto de tomografía por el método de impedancia eléctrica. Avances actuales.** Angel R. Zapata†, Andrés Gaona, Mario Castro, Miguel A. Aguilón, David Vázquez
- 16 **Confiabilidad de los datos no experimentados de conductas de reproducción en el mono de muñón (*Macaca arctoides*) en cautividad.** Alejandro Cerda, Paola Zubirán, Francisco Rodríguez, María del Socorro Mondragón-Ceballos, Jairo Muñoz
- 27 **Características psicométricas de la Escala de Ideación Suicida de Beck (ISB) en estudiantes universitarios de la ciudad de México.** Socorro González, Alejandro Díaz-Martínez, Silvia Ortiz, Catalina González-Forzeza, José de J. González
- 41 **Efectos residuales de la administración de hipnóticos sobre los patrones electroencefalográficos (PEEG) de voluntarios sanos.** Francisca Vera, José F. Navarro, Gustavo Luna-Villegas†, Rodrigo Fernández-Mas, Augusto Fernández-Guardiola
-
- ACTUALIZACION POR TEMAS
- 36 **Otro sistema de transmisión opiode en el cerebro de los mamíferos. Las endomorfinas y el receptor opiode mu.** Parte II. Philippe Leff, Rodolfo Acevedo, Armando Valdés, Iván Méndez, Sabine Morales, Juan C. Calva, Benito Antón
- 42 **Cómo actúa la progesterona en el Sistema nervioso central.** Ana G. Gutiérrez-García, Carlos A. Gómez†, José L. Díaz-Meza
-
- 49 **REVISION DE LA BIBLIOGRAFIA INTERNACIONAL***
- 53 **AVANCES EN LA PSIQUIATRIA. AUTOEVALUACION**
- 55 **INFORMACION Y ACONSEJAMIENTOS**

*Colaboraron: Valerio Villamil

Cómo actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central

Ana G. Gutiérrez-García*
Carlos M. Contreras*
José Luis Díaz-Meza*

Summary

The brain has an enzymatic ability to biosynthesize cholesterol, which is a predecessor of all steroids. Therefore, progesterone, a gonadal steroid, is also biosynthesized in the nervous system by glial cells, and possibly by certain neuronal populations as well. Progesterone and its reduced metabolites exert a wide spectrum of biological activity on the central and peripheral nervous system. These effects not only affect the reproductive regulation, but also exert multiple actions on the brain when acting directly on the membrane receptors, thus reproducing some actions of the neurotransmitters for which a series of effects associated with diverse behavior patterns have been proposed. The presence of this steroid in different regions of the brain seems to play a neuromodulatory physiological role in the development of stress and aggression, and influence mood and sexual behavior. Its designation as neurosteroids is justified. The effects of progesterone on the central nervous system involves both genomic and non genomic actions on different neurotransmission systems. Diverse clinical and experimental studies suggest that progesterone, besides exerting trophic functions through paracrine/autocrine actions, is also able to modulate systems of membrane receptors, such as the serotonergic, noradrenergic and dopaminergic systems. It is important to point out that these four neurotransmitters have been involved in depression and in the actions of antidepressants, particularly in the GABA, and also in anxiety processes. Therefore, it has been suggested that progesterone contributes to regulate emotional disorders possibly exerting its actions on brain structures that are part of the limbic system, similarly as antidepressants. It has been shown that progesterone produces changes in useful behavioral tests for testing anxiolytic and antidepressant compounds. For instance, some suggestive data on the increased resistance of rats to despair occurs in the phases of the estrous cycle characterized by an increase in the surrounding levels of progesterone, together with an increase of the neuronal activity of the lateral septal nucleus, similarly to that produced by clinically effective antidepressants. Thus, progesterone seems to share some of the actions of the antidepressants. Likewise, progesterone and its reduced metabolites decrease experimentally induced anxiety. These effects are due to their actions as allosteric agonists of the GABA_A/benzodiazepine/Cl⁻ receptor complex, similar effect to that produced by most of the known anxiolytics, which have affinity for the GABA receptor. These actions explain the anesthetic, hypnotic,

and anxiolytic effects of some progestagens. However, the physiological significance of the effects of progesterone and its metabolites on the central neurotransmission still remains unexplained. This revision work describes the experimental evidences that have shown that progesterone, a gonadal hormone, is also biosynthesized by the nervous tissue and can modify the neuronal excitability modulating the activity of the GABA_A receptor by acting on membrane receptors coupled to ionic channels, thus playing an important role in the etiology of some psychiatric disorders associated with changes in the hormonal plasmatic levels, such as anxiety, postpartum depression and premenstrual syndrome.

Key words: Anxiety, depression, neurosteroids, progesterone, GABA.

Resumen

La progesterona y sus metabolitos poseen un amplio espectro de actividad biológica sobre el sistema nervioso central y periférico. Estos efectos incluyen su bien conocida participación en la reproducción, pero además, influyen en la regulación de otros aspectos conductuales. El hallazgo de que la progesterona se biosintetiza en diferentes regiones cerebrales ha permitido concebirla como un neuroesteroide y considerar su participación en diversas funciones centrales. La acción de los esteroides a nivel neuronal se estableció a través de receptores intracelulares específicos de alta afinidad y mediante sus efectos no genómicos al interactuar con los receptores membranales para reproducir algunas de las acciones de los neurotransmisores. La progesterona interactúa especialmente sobre el receptor GABA_A y aumenta la frecuencia de apertura del canal de cloro, a la vez que establece una acción inhibitoria. Diversas evidencias clínicas y experimentales sugieren que la progesterona modula otros sistemas de receptores de membrana tales como el serotonérgico, el noradrenérgico y el dopaminérgico, que son los tres neurotransmisores que intervienen en la depresión y en las acciones de los antidepressivos. Conviene destacar que estos neurotransmisores, junto con el receptor GABA, participan en los procesos de ansiedad, y que es bien conocida la relación que hay entre la ansiedad y la depresión. Por lo tanto, se ha sugerido que la progesterona contribuye a la regulación de los trastornos afectivos y, posiblemente, ejerza sus acciones sobre las estructuras cerebrales que forman parte del sistema límbico, de manera semejante a como lo hacen los antidepressivos. Dentro de esta línea de investigación se ha demostrado que la progesterona produce cambios en la ejecución de las pruebas conductuales, que son útiles para ensayar los compuestos ansiolíticos y antidepressivos. Por ejemplo, los animales íntegros tienen una buena ejecución en los diversos modelos de ansiedad y depresión en las fases del ciclo estral, que se caracterizan por el incremento de los niveles circulantes de progesterona, y que coinciden con el aumento de la actividad neuronal del núcleo septal lateral en forma semejante a lo que ocurre cuando se administran

* Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México e Instituto de Neurobiología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.
Correspondencia: Dr. Carlos M. Contreras, A. P. 320, Xalapa 91000, Veracruz, México. Tel-fax: (28) 12 57-48, e-mail: cmc@bugs.uvest.mx

Recibido primera versión: 3 de septiembre de 1999

Recibido segunda versión: 29 de octubre de 1999

Aceptado: 12 de enero de 2000

antidepresivos únicamente eficaces. Así, la progesterona parece compartir algunas de las acciones de los antidepresivos. En síntesis, la progesterona y sus metabolitos reducidos se comportan como agonistas alostéricos del complejo receptor GABA_A/benzodiazepina/Cl⁻, de igual forma que la mayoría de los fármacos ansiolíticos conocidos, lo que se relaciona con los efectos anestésicos, hipnóticos y ansiolíticos de algunos progestágenos. Sin embargo, el significado funcional de las interacciones de la progesterona y de sus metabolitos sobre la neurotransmisión central todavía no se aclara. En esta revisión se describen las pruebas experimentales que demuestran que la progesterona, que se consideraba clásicamente como una hormona gonadal, también es biosintetizada por el tejido nervioso, lo que indica su posible participación en algunos de los trastornos conductuales relacionados con los cambios de los niveles plasmáticos hormonales circulantes, como en el caso de la ansiedad, la depresión postparto y la tensión premenstrual.

Palabras clave: Ansiedad, depresión, neuroesteroides, progesterona, GABA.

Introducción

La progesterona es un esteroide caracterizado como una típica hormona sexual femenina por producirse en el cuerpo lúteo ovárico, durante la segunda parte del ciclo menstrual. Esta hormona proviene del colesterol y su función más conocida es la reproductiva (62). Sin embargo, la progesterona y sus metabolitos también son biosintetizados por las células gliales en el sistema nervioso central y por las células de Schwann en el sistema periférico (1,2,29). Además, en repetidas ocasiones se ha demostrado que las neuronas del hipotálamo, las del cuerpo estriado, las de la amígdala, las del *septum*, las del cerebelo y las de la corteza cerebral también sintetizan progesterona (1,2,28,38,43,44,63), lo que sugiere que el espectro de la actividad biológica de esta hormona es más amplio de lo que se había supuesto. Efectivamente, en la actualidad, la progesterona se considera como un neuroesteroide activo que influye de diversas maneras en diferentes patrones del comportamiento, y no sólo en el reproductivo (2,56).

Biosíntesis neural de la progesterona

Los esteroides son biomoléculas cuya estructura química consiste básicamente en el ciclo pentanoperhidrofenantreno (33,62). La progesterona es un esteroide de 21 átomos de carbono que procede de la pregnenolona, la cual, a su vez, proviene del colesterol (51). En la biosíntesis esteroidea intervienen, fundamentalmente, la citocromo P450 *scc* (la enzima desramificante del colesterol), la citocromo P450 17- α -hidroxilasa, la P450 aromatasas y la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β HSD). Estas enzimas reguladoras participan en la conversión del colesterol en pregnenolona, de la pregnenolona en progesterona y, finalmente, de los andrógenos en estrógenos (42). A nivel neural estas enzimas también se relacionan con la biosíntesis esteroidea (figura 1). Es por ello que en el término neuroesteroide intervienen todos aquellos esteroides que son biosintetizados y almacenados en el cerebro a partir del colesterol (51). Los neuroesteroides se clasifican como activos e inactivos. Los primeros son aquellos que provienen de tejido endocrino periférico, o bien, que

son sintetizados *de novo* por el cerebro a partir del colesterol y que tienen actividad biológica comprobada sobre el tejido neuronal (43). El término neuroesteroide inactivo se refiere a aquellos esteroides que son sintetizados en el cerebro pero que carecen de actividad en el tejido neuronal (42).

Mediante el uso de técnicas inmunocitoquímicas y de hibridación *in situ* se ha logrado determinar la distribución de las enzimas que participan en la biosíntesis esteroideogénica en una gran variedad de especies de animales, independientemente del género. Estas enzimas se han localizado en el hipotálamo, el bulbo olfatorio, el cuerpo estriado, el septum, el hipocampo, la amígdala, el cerebelo y la corteza cerebral (2,43). A su vez, varios metabolitos de la progesterona se localizan en la hipófisis anterior, el núcleo arcuato, el área prefrontal y los núcleos supraquiasmáticos (33,44), así como en el mesencéfalo, la corteza cerebral, el tálamo, el cuerpo estriado, el *septum*, la médula espinal, el cerebelo y la glándula pineal (1,2,42,43,63).

Dadas las funciones ya establecidas, llama la atención la presencia de receptores de esteroides en el núcleo septal lateral (28), ya que se ha implicado que esta estructura interviene en el control de diversos estados emocionales caracterizados por ansiedad y miedo (59). En efecto, la estimulación eléctrica continua del núcleo septal lateral produce efectos similares a las benzodiazepinas en los paradigmas conductuales de ansiedad (64), con la participación de los receptores GABAérgicos (16) que también están presentes en el núcleo septal lateral (28,45), en donde coexisten con los receptores de benzodiazepinas (60) y con otros más. Este hallazgo resulta interesante porque el núcleo septal ha sido propuesto como uno de los "sitios blanco" de la acción de los fármacos con potencia antidepresiva (8,10), por lo que la acción de los esteroides sobre esta estructura podría contribuir a la regulación del comportamiento emocional.

Los efectos de la progesterona sobre el sistema nervioso central se han atribuido a su acción sobre ciertos receptores específicos intracelulares. La naturaleza lipofílica del esteroide le permite penetrar libremente en la célula a través de la membrana plasmática, y difundirse con facilidad en el citoplasma, por lo que su efecto biológico ocurre típicamente en periodos relativamente largos, debido a que los procesos de transcripción (síntesis de ARN mensajero) y traducción (síntesis de proteínas) tardan varios minutos, e incluso horas, en llevarse a cabo (23). Por el contrario, las acciones que se ejecutan cuando los neurotransmisores se enlazan con los receptores de membrana, tardan milisegundos. La rapidez con la que se llevan a cabo ciertas acciones de la progesterona sobre el sistema nervioso central sugiere que son ajenas al genoma, es decir, que ocurren sobre los receptores de membrana mediante enlaces de alta afinidad (41) con receptores GABA_A, membranales (7,34,41) ubicados en diversas regiones cerebrales, lo que señala que la progesterona participa en las funciones relacionadas con el GABA (36).

Acciones de la progesterona sobre el sistema nervioso

La progesterona ejerce diversos efectos plásticos sobre el sistema nervioso central, al influir en el crecimiento,

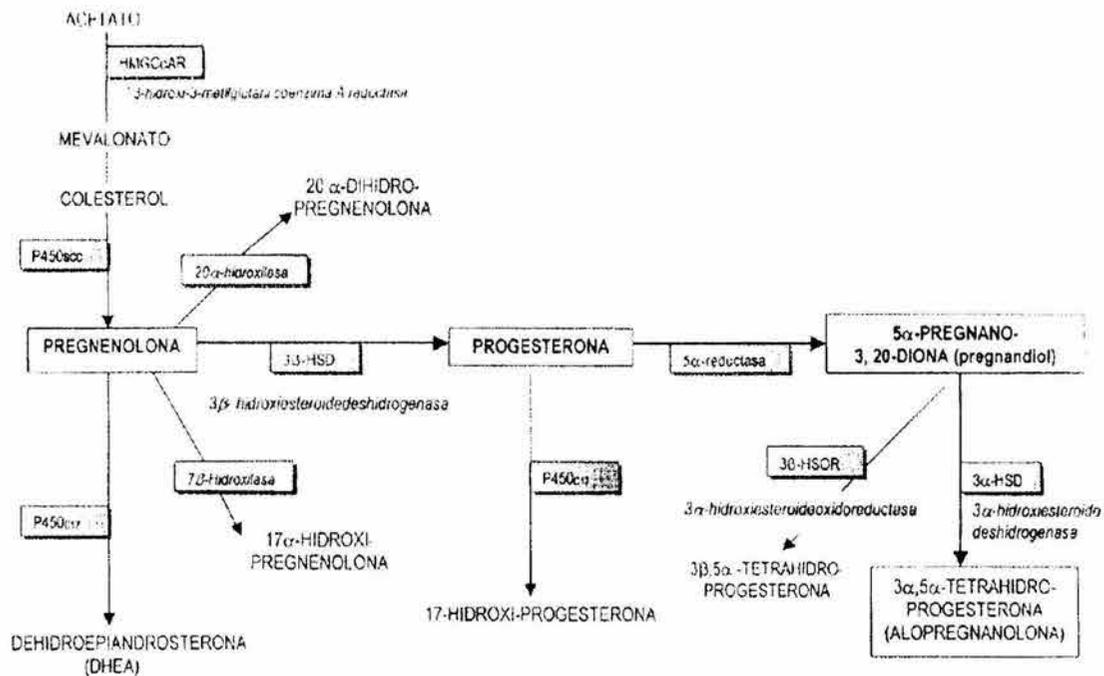


Figura 1. Vía de biosíntesis y metabolismo del neuroesteroide progesterona. También se muestra el nombre de las enzimas involucradas en cada una de las reacciones. La actividad biológica de estas enzimas sobre el tejido neuronal y su localización en el sistema nervioso central ha sido determinada a través de técnicas inmunocitoquímicas y por hibridación *in situ* (para mayor detalle consultar la revisión de Mensah-Nyagan y colaboradores [43]).

la maduración, la diferenciación, y el funcionamiento de las células nerviosas (2); en la regeneración axonal (29); en la reducción del edema cerebral después de un traumatismo (54), en la actividad cognoscitiva (1), en el estrés (58) y en otros procesos.

Desde hace tiempo, se cree que la progesterona interviene en la diferenciación sexual del sistema nervioso central, en el comportamiento reproductivo, particularmente en la conducta de lordosis (37) y en la conducta maternal (55). En efecto, la unión de la progesterona a los receptores intracelulares ubicados en el hipotálamo facilita la conducta de lordosis (40). También ha sido demostrada la función anestésica, analgésica e hipnótica de por lo menos uno de los metabolitos de la progesterona, el esteroide $3\alpha, 5\alpha$ -tetrahidroprogesterona ($3\alpha, 5\alpha$ -TH PROG = 3α -hidroxi, 5α -pregnano-20-ona = alopregnanolona), lo que también se lleva a cabo mediante la modulación del receptor $GABA_A$ (27,35,37).

La progesterona y sus metabolitos pueden modular el complejo receptor $GABA_A$ /benzodiazepinas influyendo así en las concentraciones intracelulares a nivel nanomolar del ion cloro (24,34,35). El receptor $GABA_A$ se encuentra en la membrana postsináptica, es de tipo ionotrópico por pertenecer a la familia de los canales unidos a iones específicos (figura 2), y está conformado por diferentes subunidades ($\alpha 1$ - $\alpha 6$, $\beta 1$ - $\beta 3$, $\gamma 1$ - $\gamma 3$ y δ), por lo que constituye canales selectivos al ion cloro (59). Tiene por lo menos, tres sitios de reconocimiento: uno para el ácido γ -aminobutírico (GABA), otro para las benzodiazepinas y el tercero para los barbitúricos (46). La progesterona y algunos de sus metabolitos funcionan como moduladores positivos al aumentar la afinidad del receptor por el GABA, con lo que se incrementa la

frecuencia y la duración de la apertura del canal de cloro acoplado al receptor $GABA_A$ (7,34,38). Algunas observaciones en los cultivos de las neuronas del hipocampo y de la médula espinal han confirmado que los esteroides neuroactivos modulan la actividad del receptor $GABA_A$. La aplicación *in vitro* de bajas concentraciones (rango submicromolar) de progesterona potencian indirectamente la conductancia de cloro en el receptor, mientras que las altas concentraciones (rango micromolar) estimulan directamente la apertura del canal de cloro incrementando así la conductancia iónica (38,56). Lambert y colaboradores (34) compararon los efectos de la aplicación intra y extracelular de esteroides sobre la conductancia iónica de cloro en el receptor $GABA_A$, y observaron que los esteroides neuroactivos pueden interactuar en distintos sitios alostéricos del complejo receptor $GABA_A$ (56,59). Por esta razón se ha determinado un sitio de reconocimiento al metabolito 3β -hidroxi- 5α -pregna-20-ona y a la progesterona en el complejo receptor $GABA_A$ /benzodiazepina/Cl⁻ (12,34,35), por lo que podría suponerse que la interacción de la progesterona con el receptor $GABA_A$ podría reproducir algunas de las acciones de este neurotransmisor. Conviene destacar que los efectos del incremento en la conductancia de cloro en el receptor $GABA_A$ en presencia de GABA sólo se observan bajo concentraciones nanomolares de los esteroides neuroactivos (10-30 nM), sin embargo, a mayores concentraciones, estas hormonas pueden abrir directamente el canal de cloro acoplado al receptor $GABA_A$ (31,37). Por lo tanto, la acción neuromoduladora de los neuroesteroides parece estar mediada tanto por una acción directa sobre el complejo receptor $GABA_A$ en un sitio de reconocimiento diferente del de las

benzodiazepinas y los barbitúricos, como en forma indirecta por medio de mecanismos que implican la fosforilación de las proteínas (34), además de su participación como moduladores de la función del receptor GABA_A (56).

Baulieu y colaboradores (2) sugieren que la progesterona actúa sobre el sistema nervioso central por medio de mecanismos paracrinautócrinos (1,2,29) debido a que sus metabolitos reducidos pueden ser sintetizados *de novo* por el sistema nervioso central y modular así la actividad del complejo receptor GABA_A (29,34) e influir en la excitabilidad neuronal (36,37). Majewska y su grupo de trabajo (37,38) también han sugerido que la progesterona no actúa directamente sobre el receptor GABA_A, sino que, probablemente, sus acciones están mediadas por sus metabolitos reducidos, lo que se apoya en el hecho de que los metabolitos esteroidales de la progesterona son biológicamente activos y tienen sitios específicos de reconocimiento en el receptor GABA_A (33,56).

Otro hecho más que debe considerarse es que el metabolismo del precursor de la progesterona, es decir, la pregnenolona, se lleva a cabo en los astrocitos (1). En los cultivos de tejido de las células gliales de las ratas recién nacidas se ha encontrado [³H] mevalonato, un precursor del colesterol (2). La enzima 3 α -hidroxisteroideoxidorreductasa es abundante en los astrocitos tipo-1, lo que indica que también las células gliales pueden biosintetizar progesterona, y el hecho de que este neuroesteroide incrementa la expresión genética de las proteínas mielínicas permite que las células gliales contribuyan a la regulación de la mielinización por medio de la participación de la progesterona (29,41).

Los estudios experimentales y las implicaciones clínicas

La progesterona y sus metabolitos reducidos se comportan como agonistas alostéricos del complejo receptor GABA_A/benzodiazepina (34), en el que aumentan la frecuencia de apertura del canal del flujo iónico (35). Como contraparte, los receptores GABA_A constituyen un sitio de reconocimiento de diversos compuestos ansiolíticos, sedantes y anticonvulsivantes (30). En efecto, la progesterona y sus metabolitos pueden inducir acciones ansiolíticas y antidepresivas (48) mediadas por la activación del complejo receptor GABA_A (5,6,37), un efecto similar al producido por la mayoría de los fármacos ansiolíticos conocidos (cuadro 1). La interacción de la progesterona con el receptor GABAérgico se ha establecido mediante diversos estudios farmacológicos: la administración de flumazenil (5 y 10 mg/Kg), un antagonista específico de las benzodiazepinas, bloquea las acciones ansiolíticas de la alopregnanolona en la prueba de enterramiento defensivo en las ratas (19). Estos efectos también pueden ser bloqueados por la administración de un antagonista GABAérgico inespecífico, como la picrotoxina (5). Asimismo, la administración exógena de progesterona reduce los niveles evaluados de ansiedad en las pruebas conductuales de conflicto (53).

La progesterona y otras progestinas (los precursores y los metabolitos de la progesterona) inducen la

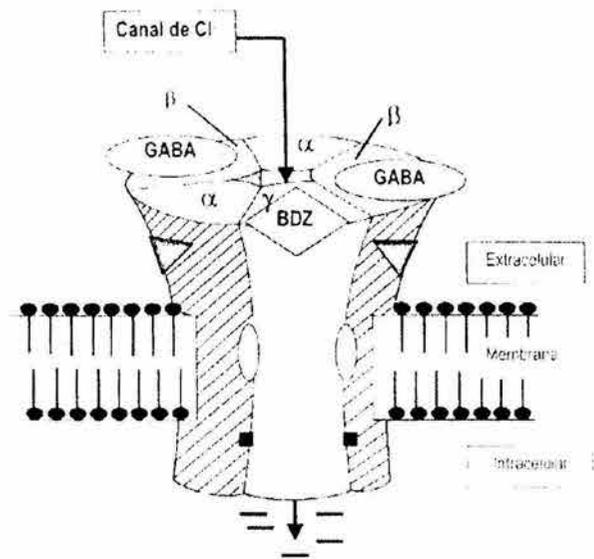


Figura 2. Esquema representativo de la estructura del complejo receptor GABA_A/benzodiazepina/Cl. Este receptor está constituido por varias subunidades (α - α 6, β - β 3, γ - γ 2, δ) que forman un canal iónico y contiene sitios de reconocimiento específicos para varias sustancias como: el ácido g-aminobutírico (GABA), las benzodiazepinas (BZN), algunos esteroides neuroactivos (?), los barbitúricos (?), y la picrotoxina (j).

anestesia, la analgesia y la hipnosis (27) por su alta afinidad con el complejo receptor GABA_A, y por potenciar la conductancia iónica de cloro de manera similar a la de los barbitúricos y las benzodiazepinas (34,38,42). Estas hormonas modifican la excitabilidad de grandes poblaciones neuronales que desempeñan un papel importante en la epilepsia (37). En los experimentos en animales de laboratorio se ha observado el efecto ansiolítico de la progesterona (6,18), que se atribuye, principalmente, a su metabolito reducido, la alopregnanolona (6,19). Sin embargo, el hecho de que se haya identificado un receptor endógeno de los fármacos, como las benzodiazepinas o los barbitúricos, sugiere que hay un compuesto endógeno para el complejo receptor GABA_A y, al parecer, los únicos compuestos biosintetizados que parecen reunir estas características son la progesterona y sus metabolitos (52).

En el mismo sentido, diversos modelos para el estudio experimental de la ansiedad y de la depresión han sugerido que estos estados se modifican de acuerdo con la fase del ciclo estral de la rata (14,15); por ejemplo, se ha encontrado que se reduce la ansiedad de las ratas, evaluada el día 14 de gestación, con la prueba de enterramiento defensivo (48). Esto se relaciona con los altos niveles plasmáticos de progesterona en esta etapa. Además, las ratas en proestro y estro están menos tiempo inmóviles en la prueba de nado forzado (9). Dos de las fases del ciclo estral de la rata, caracterizadas por altos niveles de estradiol y progesterona (22), y la progesterona aplicada por vía sistémica, disminuyen significativamente la duración total de la inmovilidad de manera dosis-dependiente en la prueba de nado forzado (39). De igual manera, a lo largo del ciclo estral es máxima la frecuencia de disparo neuronal del núcleo septal lateral de la rata durante la fase de proestro (11)

CUADRO 1

Efectos conductuales del neuroesteroide progesterona en diferentes modelos animales para el estudio experimental de la ansiedad y la depresión

Estudios conductuales en animales	Referencia
ACCIONES ANSIOLITICAS	
- La progesterona y sus metabolitos reducen la ansiedad evaluada en el modelo de enterramiento defensivo y el laberinto de brazos elevados.	(5,6,19)
- En la rata hembra la alopregnanolona y la progesterona a altas dosis (10 µg) produce sedación, efecto que es bloqueado por la administración de picrotoxina.	(5)
- Reducción de la ansiedad en la prueba de enterramiento defensivo en ratas de 14 días de gestación.	(48)
- Las ratas hembras en la fase de proestro muestran una menor ansiedad en pruebas conductuales.	(4,15,18)
- La administración exógena de progesterona reduce los niveles de ansiedad evaluada en la prueba de conflicto.	(53)
ACCIONES ANTIDEPRESIVAS	
- La aplicación de progesterona por vía sistémica decremента la duración total de la inmovilidad en la prueba de nado forzado.	(39)
- Ratas en proestro-estro, disminuyen el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado.	(9)
- La microinyección de progesterona intra-septal disminuye el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado, de manera similar al antidepressivo imipramina.	.
- La inyección subcutánea de progesterona durante 4 días reduce la duración total de la inmovilidad en la prueba de suspensión de la cola en ratones ovariectomizadas.	(3)

*Contreras, et al (datos no publicados)

Esta es una acción semejante a la que producen diversos fármacos antidepressivos que son clínicamente eficaces (8,10). Las acciones ansiolíticas y antidepressivas del tricíclico desmetilimipramina son dependientes de la fase del ciclo estral (9,17), lo cual sugiere que estos fármacos están interactuando, probablemente, con la progesterona al igual que sobre el sistema GABA_A/benzodiazepina (17).

Estos estudios apoyan la observación de que algunos trastornos conductuales parecen estar relacionados con los cambios en los niveles hormonales, como la depresión postparto y la tensión premenstrual. Una de las características comunes de estos síndromes, radica en que los niveles plasmáticos mínimos de estradiol y de progesterona se correlacionan conductualmente con estados transitorios de ansiedad y depresión (26, 47). En efecto, algunos de los episodios caracterizados por distrés físico, irritabilidad y cambios psicológicos o de conducta, que ocasionan problemas en las relaciones interpersonales o interferencia con las actividades normales, han sido observados al final de la fase lútea del ciclo menstrual. Estos estados pueden estar exacerbados por otros síntomas clínicos, como las cefaleas, la fatiga, el edema, incluyendo las alteraciones del estado de ánimo, la ansiedad, la bulimia, el abuso de sustancias tóxicas, e incluso los estados psicóticos (13, 47, 50). Por ello se supone que las hormonas gonadales esteroidales intervienen en la etiología de diversos trastornos afectivos, debido a que las mujeres de cualquier edad corren más riesgo de padecerlos que los hombres. Los estudios sobre el trastorno depresivo mayor indican que la prevalencia en la población adulta en general, es del 10 al 25% en las mujeres y del 5 a 12% en los hombres (49). Esta alta incidencia de depresión en las mujeres se ha atribuido a las fluctuaciones de los estados endocrinos. Se ha observado que la placidez

y la mejoría del estado de ánimo de las mujeres embarazadas, coincide con niveles elevados de progesterona y de otras hormonas. Por el contrario, en el puerperio, cuando las hormonas disminuyen drásticamente, es común que se presente la depresión postparto (25). La depresión mayor postparto es relativamente común, con una prevalencia de 10 a 15%, y sus signos y síntomas son iguales a los de la depresión mayor no asociada con la gestación (57). Por lo anterior se cree que las hormonas gonadales pueden contribuir a la intensidad y a la aparición de alteraciones afectivas.

Las mujeres que presentan cuadros depresivos durante la menopausia o síndrome premenstrual mejoran de sus síntomas al ser tratadas con estradiol (26,32) o con progesterona (13). Hace tiempo que Freeman y colaboradores (21) observaron que la administración por vía oral de 1200 mg de progesterona disminuye los síntomas de ansiedad, depresión y estrés en las mujeres con síndrome premenstrual. Se ha determinado que varios de los fármacos que promueven la actividad serotoninérgica son efectivos en el tratamiento del síndrome premenstrual, lo que sugiere que este neurotransmisor, que supuestamente participa en la etiología del trastorno depresivo, también interviene en algunos de los síntomas premenstruales (47). Por medio de técnicas de radioinmunoensayo se ha observado que se reducen los niveles sanguíneos de serotonina en las mujeres que padecen el síndrome premenstrual (50), lo cual sugiere que la neurotransmisión serotoninérgica puede estar relacionada con algunos cambios en las concentraciones sanguíneas de las hormonas gonadales.

Conclusiones y comentarios

La progesterona actúa por lo menos sobre el genoma y en otras áreas no genómicas, como es el caso de la

membrana neuronal. La progesterona ejerce diversas funciones neuronales, además de su conocida participación en la reproducción. Es una sustancia que se sintetiza en diversas estructuras del cerebro, como lo demuestran sus acciones relacionadas con la conducta y, de manera particular, con los estados de ánimo, por medio de los mecanismos en los que interviene el complejo de receptores GABA_A/benzodiazepina/Cl⁻, entre otros. Por esta razón se puede sugerir que las acciones de la progesterona modulan la expresión de las conductas relacionadas con la ansiedad y con los

trastornos afectivos por medio de su interacción con las estructuras que forman parte del sistema límbico y con los diferentes sistemas de neurotransmisión, en los que los fármacos ansiolíticos y antidepressivos establecen sus acciones; esta posibilidad no ha sido totalmente explorada. Por último, las evidencias descritas hasta el momento indican que estos neuroesteroides podrían ser, además del GABA, el substrato endógeno para el receptor GABA_A, y así funcionar en conjunto para mantener la homeostasia del organismo ante las situaciones adversas.

REFERENCIAS

- AKWA Y, SANANES N, GOUZOU M, ROBEL P, BAULIEU EE, GOASCOGNE CL: Astrocytes and neurosteroids: metabolism of pregnanolone and dehydroepiandrosterone regulation by cell density. *J Cell Biol*, 121(1):135-143, 1993.
- BAULIEU E, SCHUMACHER M, KOENING H, JUNGTESTAS I, AKWA Y: Progesterone as a neurosteroid: actions within the nervous system. *Cell Mol Neurobiol*, 16(2):143-154, 1996.
- BERNARDI M, VERGONI AV, SANDRINI M, TAGLIAVINI S, BERTOLINI A: Influence of ovariectomy, estradiol and progesterone on the behavior of mice in an experimental model of depression. *Physiol Behav*, 45:1067-1069, 1989.
- BITRAN D, DOWD JA: Ovarian steroid modify the behavioral and neurochemical responses of the central benzodiazepine receptor. *Psychopharmacology*, 125:65-73, 1996.
- BITRAN D, HILVERS RJ, KELLOGG CK: Anxiolytic effects of 3 α -hydroxy-5 α [[3]-pregnan-20-one: endogenous metabolites of progesterone that are active at the GABA_A receptor. *Brain Res*, 561:157-161, 1991.
- BITRAN D, PURDY R, KELLOGG C: Anxiolytic effect of progesterone is associated with increases in cortical allopregnanolone and GABA_A receptor function. *Pharmacol Biochem Behav*, 45:423-428, 1993.
- CANONACO M, CARELLI A, MAGGIA A: Steroid hormones and receptors of the GABA_A supramolecular complex. II. Progesterone and estrogen inhibitory effects on the chloride channel receptor in different forebrain areas of the female rat. *Neuroendocrinology*, 57:974-984, 1993.
- CONTRERAS CM, ALCALA HERRERA V, MARVAN ML: Action of antidepressants on the septal nuclei of the rat. *Physiol Behav*, 46:793-798, 1989.
- CONTRERAS CM, MARTINEZ-MOTA L, SAAVEDRA M, MOLINA M: Desipramine restricts estral cycle oscillations in swimming. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat*, 22:1121-1128, 1996.
- CONTRERAS CM, MARVAN ML, ALCALA-HERRERA V, GUZMAN-SAENZ MA: Effect of chronic clomipramine administration on septal nuclei of the rat. *Physiol Behav*, 48:551-554, 1990.
- CONTRERAS CM, MOLINA M, SAAVEDRA M, MARTINEZ ML: Lateral septal neurons firing rate increases during proestrus-estrus in the rat. *Physiol Behav*, 1999 (en prensa).
- CORPECHOT C, YOUNG J, CALVEL M, WEHREY C, VELTZ J, TOUYER G, MOUREN M, PRASAD V, BANER C, SJÖVALL J, BAULIEU E, ROBEL P: Neurosteroids, 3 α -Hydroxy-5 α -pregnan-20-one and its precursors in the brain, plasma, and steroidogenic glands of male and female rats. *Endocrinology*, 133:1003-1009, 1993.
- DENNERSTEIN L, SPENCER-GARDNER C, GOTTS G, BROWN JB, SMITH MA, BURROWS GD: Progesterone and the premenstrual syndrome: a double blind crossover trial. *Brit J Med*, 290:1617-1621, 1995.
- DIAZ-VELIZ G, URESTA F, DUSSAUBAT N, MORA S: Effects of estradiol replacement in ovariectomized rats on conditioned avoidance responses and other behaviors. *Physiol Behav*, 50:61-65, 1991.
- DIAZ-VELIZ G, URESTA F, DUSSAUBAT N, MORA S: Progesterone effects on the acquisition of conditioned avoidance responses and other motoric behaviors in intact and ovariectomized rats. *Psychoneuroendocrinol*, 19(4):387-394, 1994.
- DRUGAN RC, SKOLNICK P, PAUL SM, CRAWLEY JN: Low doses of muscimol produce anticonflict actions in the lateral septum of the rat. *Neuropharmacology*, 25:203-205, 1986.
- FERNANDEZ-GUASTI A, MARTINEZ-MOTA L, ESTRADA-CAMARENA E, CONTRERAS CM, LOPEZ-RUBALCAVA C: Chronic treatment with desipramine induces an estrous cycle-dependent anxiolytic-like action in the burying behavior, but not in the elevated plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav*, 63(1):13-20, 1999.
- FERNANDEZ-GUASTI A, PICAZO O: Changes in burying behavior during the estrous cycle: effect of estrogen and progesterone. *Psychoneuroendocrinol*, 17:681-689, 1992.
- FERNANDEZ-GUASTI A, PICAZO O: Flumazenil blocks the anxiolytic actions of allopregnanolone. *Eur J Pharmacol*, 281:113-115, 1995.
- FINK G, SUMMER BE, ROSIE R, GRACE O, QUINN JP: Estrogen control of central neurotransmission: effect on mood, mental state, and memory. *Cell Mol Neurobiol*, 16(3):325-344, 1996.
- FREEMAN EW, PURDY RH, COUTIFARI C, RICKELS K, PAUL SM: Anxiolytic metabolites of progesterone: correlations with mood and performance measures following oral progesterone administration to healthy female volunteers. *Neuroendocrinology*, 58:478-484, 1993.
- FREEMAN ME: The ovarian cycle of the rat. Knobil E, Neill J (eds). En: *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, 1893-1912, Nueva York, 1988.
- GARCIA-SAINZ JA: *Hormonas: Mensajeros Químicos y Comunicación Celular*. La Ciencia desde México. Fondo de Cultura Económica, (28):71-77. México, 1987.
- GEE K, BOLGER MB, BRINTON R, CORINI H, MCFWEN BS: Steroid modulation of the chloride ionophore in rat brain: structure-activity requirements, regional dependence and mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther*, 246(2):803-812, 1988.
- HALBREICH U, LEMUS CZ, LIEBERMA JA, PARRY B, SCHIAVI RC: Gonadal hormones sex and behavior. *Psychopharmacol Bull*, 26(3):297-301, 1990.
- HALBREICH U, ROJANSKY N, PALTER S, TWOREK H, JISSIN P, WANG K: Estrogen augments serotonergic activity in postmenopausal women. *Biol Psychiat*, 37:434-441, 1995.
- HARRISON NL, SIMMONDS MA: Modulation of the GABA receptor complex by a steroid anaesthetic. *Brain Res*, 323:287-292, 1984.
- JAKAB RL, LERANTH C: Septum. Paxinos G (ed): En: *The Rat Nervous System*. Academic Press, 593-596, San Diego, 1995.

29. JAIN R, ESPINOSA SCHWABER M, ROBELLO BAULIEU EE: The neurosteroid progesterone increases the expression of major proteins (MBP and CNPase) in rat oligodendrocytes in primary culture. *Cell Mol Neurobiol* 16(3):439-443, 1996.
30. KLEIN RL, MASCIA MP, HARKNESS PC, HADINGHAM KL, WHITING PJ, HARRIS RA: Regulation of allosteric coupling and function of stably expressed gamma-aminobutyric acid (GABA_A) receptors by chronic treatment with GABA_A and benzodiazepine agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 274:1484-1492, 1995.
31. KOKATE TG, SYENSSON BE, ROGAWSKI MA: Anticonvulsant activity of neurosteroids: correlation with gamma-aminobutyric acid-evoked chloride current potentiation. *J Pharmacol Exp Ther* 270:1223-1229, 1994.
32. KORHONEN S, SAARIJARVI S, AITO M: Estradiol treatment of panic disorder in a fertile-aged woman. *Hum Psychopharm Ch* 10:465-486, 1995.
33. KUSLI C: Accion neuromoduladora de las hormonas esteroides. Zarate TA (ed). En: *Fundamentos de Neuroendocrinología*. Fondo de Cultura Económica, 92-102, México, 1993.
34. LAMBERT JJ, BELELLI D, HILL-VENNING C, PETERS A: Neurosteroids and GABA_A receptor function. *TIPS* 12:295-305, 1991.
35. LAN NC, CHEM J, BELELLI D, PRITCHETT PB, STEEBURG PH, GEE KW: A steroid recognition site is functionally coupled to an expressed GABA-A-benzodiazepine receptor. *Eur J Pharmacol Mol Pharm*, 188:403-406, 1990.
36. MAHESH VB, BRANN DW, HENDRY LB: Diverse modes of action of progesterone and its metabolites. *J Steroid Biochem Molec Biol* 55:205-219, 1996.
37. MAJESWSKA MD: Neurosteroids: endogenous bimodal modulators of the GABA_A receptor. Mechanism of action and physiological significance. *Prog Neurobiol* 35:375-395, 1992.
38. MAJESWSKA MD, HARRISON NL, SCHWARTZ RD, BARKER JL, PAUL SM: Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science* 232:1004-1007, 1986.
39. MARTINEZ-MOTA L, CONTRERAS CM, SAAVEDRA M: Progesterone improves muscular function in the rat. *Acta Med Res*, 1999 (en prensa).
40. MCFWEN BS, DAVIS P, PARSONS B, PFAFF DW: The brain as a target for steroid hormone action. *Ann Rev Neurosci* 2:65-112, 1979.
41. MCFWEN BS: Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *TIPS Rev* 12:141-147, 1991.
42. MELLON S: Neurosteroids: biochemistry, modes of action, and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab* 78(2):1003-1006, 1994.
43. MENSAH NYAGAN AG, DO-REGO JL, BEAUJEAN D, LIU THE V, PELLETIER G, VAUDRY H: Neurosteroids: Expression of steroidogenic enzymes and regulation of steroid biosynthesis in the central nervous system. *Pharmacol Rev* 51(1):63-81, 1999.
44. NABEKURA J, OOMURA Y, MINAMI T, MIZUNO Y, FUKUDA A: Mechanism of the rapid effect of 17β-estradiol on medial amygdala neurons. *Science* 233:226-228, 1986.
45. BANJLA P, REVUELTA AV, CHENEY DL, WU JY, COSTA L: An immunohistochemical study on the location of GABAergic neurons in the rat septum. *J Comp Neurol* 22:69-80, 1984.
46. PASANTES H, SANCHEZ J, TAPIA R: *Neurobiología Celular*. Fondo de Cultura Económica, 256-258, México, 1991.
47. PEARL STEIN TB: Hormones and depression: What are the facts about premenstrual syndrome, menopause, and hormone replacement therapy? *Am J Obstet Gynecol* 173:646-653, 1995.
48. PICAZO O, FERNANDEZ-GUASTIA: Changes in experimental anxiety during pregnancy and lactation. *Physiol Behav* 54:295-298, 1993.
49. PICHOT P: *DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Cuarta edición. American Psychiatric Association, 345-359, Washington, 1994.
50. RAPKIN AJ, EDELMUTH E, CHANG L, READING AF, GUIRE MT, SU TP: Whole-blood serotonin in premenstrual syndrome. *Obstet Gynecol* 70:533-537, 1987.
51. ROBELLO BAULIEU EE: Neurosteroids: biosynthesis and function. *Trends Endocrinol Metab* 5:1-8, 1994.
52. RODRIGUEZ-LANDA JF, CONTRERAS CM: Algunos datos recientes sobre la fisiopatología de los trastornos por ansiedad. *Rev Biomed* 9:181-191, 1998.
53. RODRIGUEZ SIERRA JF, HOWARD JL, POLL SARD G, HANDRIKS SE: Effect of ovarian hormones on conflict behavior. *Psychoneuroendocrinol* 9:293-300, 1984.
54. ROOT RL, DUVDEVANI R, HEYBURN JW, STEIN DG: Progesterone rapidly decreases brain edema: treatment delayed up to 24 hours is still effective. *Exp Neurol* 138:246-251, 1996.
55. ROSENBLATT L, MAYFR AD, SIEGEL H: Maternal behavior among the nonprimate animals. En: Adler A, Pfaff D, Goy RC (eds): *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Plenum Press, 229-298, Nueva York, 1985.
56. RUPPRECHT R: The neuropsychopharmacological potential of neuroactive steroids. *J Psychiat Res* 31(3):297-314, 1997.
57. SALIN PASCUAL RJ: El impacto de los sistemas hormonales sobre la neurobiología de las alteraciones afectivas de la mujer. *Psiquis* 7(3):53-59, 1998.
58. SCHAEFFER C, ARON C: Stress-related effects on the secretion of progesterone by the adrenals in castrated male rats presented to stimulus males: Involvement of oestrogen. *Acta Endocrinol* 114:440-445, 1987.
59. SCHMID G, SALA R, BONANNO G, RAITERI M: Neurosteroids may differentially affect the function of two native GABA_A receptor subtypes in the rat brain. *Arch Pharmacol* 357:401-407, 1998.
60. SQUIRES RF, BRAESTRUP C: Benzodiazepine receptors in rat brain. *Nature* 266:732-734, 1977.
61. THOMAS E: Forebrain mechanisms in the relief of fear. *Psychobiology* 16:36-44, 1988.
62. TRESGUERRES JA: Biosíntesis de las hormonas sexuales en el ovario. En: Botella LJ (ed): *El Ovario: Fisiología y Patología*. Díaz de Santos, 49-58, Barcelona, 1995.
63. TSUTSUI K, YAMAZAKI T: Avian neurosteroids. I. Progesterone biosynthesis in the quail brain. *Brain Res* 578:1-9, 1995.
64. YADIN E, THOMAS E, GRISHKT HL, STRICKLAND CE: The role of the lateral septum in anxiolysis. *Physiol Behav* 53:1077-1083, 1993.

APÉNDICE G

Gutiérrez-García AG, CM Contreras (2002). Algunos aspectos etológicos de la comunicación química en ratas y ratones de laboratorio. Rev Biomédica 13(2): 189-209.

Algunos aspectos etológicos de la comunicación química en ratas y ratones de laboratorio.

Revisión

Ana G. Gutiérrez-García, Carlos M. Contreras.

Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana e Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Xalapa, Veracruz, México.

RESUMEN.

La comunicación química a través de las feromonas, es fundamental para las relaciones intraespecíficas. Estas sustancias son particularmente importantes para promover la reproducción, el apareamiento, la inhibición o el desencadenamiento del comportamiento agresivo, la identificación entre grupos y entre individuos, la organización social, el marcaje territorial y el miedo, entre otras pautas conductuales. Diversos estudios han determinado que la presencia de sustancias de naturaleza volátil en la orina de ratas, satisfacen los criterios de feromonas, en tanto que: a) tienen efectos conductuales inmediatos y no atribuibles a otro estímulo sensorial; b) son sustancias especie-específicas; c) existe mínima influencia de la experiencia; d) indican el estado social y reproductivo de quien las produce y secreta; y e) las ratas o ratones expuestos al olor de conoespecíficos estresados muestran aversión por el origen del olor. El estudio de las señales químicas constituye una herramienta fundamental para investigar los aspectos morfológicos, fisiológicos y

bioquímicos de los receptores olfatorios, el mecanismo para el procesamiento de la información odorífera, así como el estudio de las distintas conductas y cambios endócrinos asociados a la comunicación feromonal, todo lo cual hasta hace relativamente poco tiempo se asociaba a ciertas pautas conductuales presentes sólo en los insectos. La evidencia ha indicado con claridad que las feromonas también están presentes en los mamíferos, incluido el humano, un hecho que abre expectativas que aguardan ser exploradas para explicar pautas de comportamiento en prácticamente todas las especies de animales.

(Rev Biomed 2002; 13:189-209)

Palabras clave: feromonas, sistema olfativo, órgano vomeronasal, olores aversivos, roedores.

SUMMARY.

Etologic aspects of the chemical communications in rats and mice of laboratory.

Chemical communication through feromones

Solicitud de sobretiros: Dr. Carlos M. Contreras, A.P. 320, Xalapa 91000, Veracruz, México.

Tel: 812-57-48 E-mail: cmc@bugs.invest.uv.mx

Recibido el 22/Junio/2001. Aceptado para publicación el 18/Octubre/2001.

Este artículo está disponible en <http://www.uady.mx/~biomedic/rb021336.pdf>

Vol. 13/No. 3/Julio-Septiembre, 2002

is basic for intraspecific relationships. These substances are particularly important for provoking reproduction, mating, inhibition or induction of aggressive behavior, group and individual recognition, social organization, delimitation of territory, fear and stress, among other behavioral patterns. Diverse studies have determined that the presence of volatile substances in the urine of rats, satisfies feromonal criteria, since: 1) they produce immediate behavioral effects not attributable to any other sensorial stimulus; b) they are species-specific substances; c) there is minimum influence from experience; d) they indicate the social and reproductive state of whoever produces and secretes them; and e) aversion is produced in rats or mice exposed to the odor of their stressed conspecific. The study of the chemical signals constitutes a fundamental tool for the research of morphological, physiological and biochemical aspects of olfactory receptors, the mechanism for the processing of odoriferous information, as well as the study of different behavioral patterns and endocrine changes associated with feromonal communication, which until recently were associated with certain behavioral patterns only displayed by insects. The evidence has clearly indicated that feromones are also present in mammals, including human beings, a fact that leads to expectations remaining to be explored in order to explain behavioral patterns in practically all animal species. (*Rev Biomed* 2002; 13:189-209)

Key words: Feromones, olfactory system, vomeronasal organ, aversive odors, rodents.

Introducción.

Las relaciones sociales que se establecen entre individuos de la misma especie o de especies distintas son interdependientes y permiten el intercambio de información mediante complejos sistemas de señalización, con el objeto de satisfacer sus necesidades básicas y asegurar la sobrevivencia tanto de los individuos como de las especies. De manera particular, las señales químicas son útiles

en la comunicación intra e interespecífica.

Hace más de cuarenta años, Karlson y Lüscher, después de diversos estudios en insectos, acuñaron el término de feromona para referirse a algunas sustancias químicas que son excretadas al ambiente por un organismo y que tienen como función crear vínculos de comunicación intraespecífica. Este concepto incluye las señales químicas especie específicas, las cuales provocan un comportamiento claro e inmediato; estos compuestos tienen efectos únicos en el sentido de que sus influencias sobre el comportamiento no pueden ser atribuidas a un alertamiento inespecífico (1). Las señales químicas son empleadas no sólo por los animales más primitivos en la escala filogenética, sino también en los más evolucionados, como los primates, incluyendo al hombre. Tampoco son de dominio exclusivo de los animales; el reino vegetal también las posee, en donde reciben el nombre de fitohormonas.

Generalmente en los estudios que se han llevado a cabo sobre las señales semioquímicas en mamíferos, las feromonas se han implicado en el comportamiento sexual y reproductivo, demostrando por ejemplo, que el olor de un ratón macho puede bloquear la gestación de un ratón hembra, o bien que existen olores que producen sincronización de los ciclos estrales de ratones hembras, lo cual posiblemente explique también la sincronía de los ciclos menstruales en el ser humano (2,3). Sin embargo, existen otras funciones atribuidas a las feromonas, como lo es el reconocimiento específico de individuos de la misma especie o camada, o bien la delimitación del territorio o el nivel jerárquico de dominancia. Asimismo, se ha demostrado la presencia de sustancias que son liberadas en la orina y heces del ratón, las cuales pueden estimular o inhibir la actividad general de otras ratas (4). En otros estudios el origen del olor de ratones estresados ha sido obtenido de glándulas sudoríparas de las patas, piel, o bien, del epitelio respiratorio el cual puede liberar volátiles hacia la sangre o hacia el medio exterior (5) y modificar el comportamiento

de los animales que son expuestos a dichos olores. En esta revisión vamos a considerar, brevemente, los sistemas de comunicación química que utilizan principalmente las ratas y ratones estudiados en el laboratorio experimental. Se expondrán algunos ejemplos de los principales comportamientos influenciados por feromonas y su relevancia en las interacciones sociales que se establecen entre individuos de la misma especie, lo cual podría explicar algunas pautas de comportamiento observadas en prácticamente todas las especies de animales, incluido el humano.

Semioquímica.

Las interacciones y la organización social entre los individuos de una misma especie, se relacionan con la eficacia de los mecanismos de comunicación que utilizan, como por ejemplo la visual, la táctil o la química. De manera particular, la comunicación química es fundamental en las interacciones sociales entre los individuos (6), ya que el olfato constituye un sistema sensorial capaz de afectar de manera directa la fisiología o conducta de otros individuos, por medio de un lenguaje de comunicación determinado por los sentidos químicos. Así, la comunicación animal es un proceso complejo, moldeado filogenéticamente y vinculado al desarrollo anatómico y fisiológico de la especie, de tal manera que un organismo debe ser capaz de diferenciar en un entorno heterogéneo señales relevantes para su sobrevivencia.

A diferentes niveles de la escala evolutiva, el olfato es un sistema sensorial predominante en torno al cual se integran complejas interacciones conductuales determinadas ya sea genéticamente, o bien, adquiridas mediante la experiencia y el aprendizaje, como la búsqueda, la aceptación, o el rechazo de alimento, la predación, las reacciones de huida, el comportamiento sexual y las relaciones sociales, entre otras (7).

Una de las más recientes aproximaciones al estudio del comportamiento social y la comunicación química entre mamíferos, es denominada semioquímica (6). Este término (del

griego *semeion*, señal) se refiere a aquellos compuestos o mezclas de compuestos que poseen información y que median interacciones entre organismos en el medio natural que comparten y que pueden afectar la fisiología y la conducta de los mismos (8). Dentro de las moléculas consideradas quimiosensoriales, las feromonas constituyen sólo una categoría y juegan un papel fundamental en las relaciones etológicas entre los individuos. El término feromona (9) hace referencia específicamente a las interacciones semioquímicas que ocurren entre organismos de la misma especie, los cuales liberan compuestos hacia el ambiente en respuesta a señales químicas y/o físicas (del griego, *pherein*, transportar, y de la terminación de la palabra *hormon*, excitar). Son ejemplos de feromonas las sustancias odoríferas que muchos mamíferos depositan con su orina o con secreciones glandulares para marcar su territorio, o bien, para proporcionar información sobre su estado reproductivo. La mayoría de las feromonas son detectadas mediante el olfato, pero algunas otras son ingeridas o absorbidas por medio de la piel (10), la cual contiene una serie de glándulas cuya secreción se encuentra involucrada en la comunicación química de muchas especies de animales incluyendo el humano (11). Es decir, los mamíferos liberan a su medio ambiente una amplia variedad de olores a través de sus productos de excreción, que tienen valor de señalización. En los roedores, por ejemplo, la mayor fuente de feromonas es la orina (12), la cual, dependiendo de su composición y disposición en el ambiente puede actuar como feromona promotora, liberadora o alarmogéna.

Aunque el término de feromona fue inicialmente aplicado e identificado en los insectos, algunos de los estudios más recientes muestran que estos compuestos modifican el comportamiento de diversos organismos, desde los protozoarios hasta el hombre (13). Dentro de la primera clasificación de las feromonas se contaba con aquellas llamadas feromonas liberadoras ("*releaser*"), las cuales provocan una respuesta primariamente conductual

instantánea y temporal en otro individuo de la misma especie. Así, existen algunos olores corporales que llevan al animal receptor a evitar o alejarse del sitio donde fue depositada la sustancia; mientras que las feromonas llamadas promotoras ("primer"), pueden ser producidas por uno o más individuos y provocar respuestas lentas que involucran cambios en los estados por ejemplo, endócrinos, en el desarrollo y en el comportamiento.

Años después, en 1968 Bronson (13) propuso el término de señaladores químicos, específicamente para referirse a la comunicación química entre roedores, en lugar del término feromonas liberadoras, ya que sugirió que dicho término denotaba una rigidez conceptual que probablemente no se aplique a los mamíferos, en los cuales las señales químicas son menos claras y las respuestas conductuales no se distinguen de acuerdo a la definición clásica. Estas feromonas de señalización en los roedores han sido relacionadas con la agresión, el apareamiento, el reconocimiento de conoespecíficos, el status social, la territorialidad, el cuidado parental y otras funciones vitales durante las interacciones sociales que se establecen entre individuos de la misma especie (12-17). Otro tipo de feromonas que han sido detectadas en los roedores y en otras especies, son las llamadas alarmógenas, las cuales producen respuestas rápidas de excitación general acompañada de comportamientos de escape o de defensa (18).

Como era de esperarse, un compuesto o mezcla de compuestos puede pertenecer a más de una categoría de semioquímicos y actuar como feromona liberadora, promotora o alarmógena. Es decir, en condiciones naturales, las feromonas rara vez son secretadas en ausencia de otras señales sensoriales, y nunca actúan fuera de un contexto ambiental. Por tanto, para que la comunicación química resulte efectiva, es necesario que se encuentren presentes una serie de factores físicos, sociales y ambientales (19). Por ejemplo, dos compuestos ampliamente reconocidos en el ratón

macho (*Mus domesticus*), el dehidro-*exo*-brevicomín y el 2-sec-butil-4,5-dihidrotiazol, han sido implicados tanto en la sincronización del estro y en la aceleración de la pubertad, como en el comportamiento social y agonístico, actuando como inductores de la agresión entre machos; su efecto sobre el comportamiento quizás así depende del contexto social en el que ocurre la exposición semioquímica. Adicionalmente, cada uno de los dos compuestos antes mencionados es biológicamente activo por separado, pero los dos se tornan relativamente más activos cuando se utilizan juntos, es decir, producen un efecto sinérgico sobre el comportamiento (12, 20-22).

Química de las feromonas en roedores.

En los roedores es posible clasificar a las feromonas en función de su estructura química, de sus propiedades físicas, del tipo de glándula y órgano donde son producidas, por la familia biológica donde se encuentran o bien, por su función ya sea conductual o fisiológica. Además, existen algunos mecanismos por medio de los cuales la señal feromonal puede hacerse mucho más específica y efectiva, ya sea ajustando el tiempo de desvanecimiento de la señal, por expansión del espacio activo, mediante el concurso de varias glándulas exócrinas o de una mezcla de feromonas provenientes de la misma glándula, cambiando las condiciones ambientales en que se da e incluso variando la concentración o la duración de la señal (13).

Algunas sustancias como la 2-heptanona y otras cetonas cíclicas de volatilidad semejante, han sido encontradas en muchas especies de insectos. Cuando estos compuestos y sus análogos son bioensayados en cuanto a su capacidad desencadenante de un comportamiento dado, el umbral de percepción -concentración mínima-requerida para inducir una respuesta, está en el orden de 10^7 a 10^{11} moléculas por centímetro cúbico de aire. Para ser efectivas y comunicar los riesgos en el momento preciso, estas feromonas de alarma deben: a) ser moléculas volátiles con un

peso de 100 a 200 KD; b) su espacio de actividad moderadamente pequeño (10 cm); y, c) su expansión y ocaso, de tan sólo unos minutos (23). De esta manera, alrededor de veinte sustancias elaboradas por insectos se han estimado como feromonas de alarma, se trata de cetonas de 6-8 carbonos o ésteres (24).

La identificación química de los mensajeros químicos en las secreciones, se ha efectuado utilizando la combinación de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, como un sistema de gran sensibilidad y alto poder resolutivo (25). La cromatografía de gases representa un medio adecuado para la separación, caracterización y cuantificación de las complejas mezclas orgánicas encontradas en los extractos de tejidos. Esta técnica tiene un gran poder para la separación y estimación de las concentraciones de los componentes de mezclas complejas; mientras que la espectrometría de masas tiene una gran capacidad para la identificación estructural de esos compuestos (6).

Especialmente, la orina del ratón contiene numerosas sustancias volátiles, la unicidad estructural de estas sustancias reside en su actividad óptica la cual a su vez está relacionada con su actividad biológica (17). Esta observación es relevante, dado que una de las hipótesis que intenta explicar la forma en que las sustancias odoríferas actúan en el individuo receptor se establece a través de la teoría molecular o sitio esteroquímico. Es decir, las moléculas estimulantes tienen una forma determinada, la cual se fija dentro de un sitio receptor complementario del órgano olfatorio (teoría de Amoore). Novotny y colaboradores (12,17) han propuesto que la estereoespecificidad de la percepción del olor, depende de la selectividad enantiomera de la feromona, lo cual puede deberse, por ejemplo, a un isomero óptico individual del 3,4-dehidro-*exo*-brevicomín (en presencia de un 2-*sec*-butildihidrotiazol racémico); estas feromonas han sido bioensayadas en pruebas conductuales, demostrándose que ambas actúan sinérgicamente para promover comportamientos sociales y

reproductivos (22).

Otros semioquímicos identificados en la orina del ratón, son aquellos que desempeñan un papel relevante como señaladores de dominancia asociada a la agresión y territorialidad (22). El contenido de dos compuestos identificados como terpénicos muestra un incremento dramático en la orina sólo de ratones dominantes, comparado con los subordinados; estas sustancias han sido descritas como α -farneseno y β -farneseno (20). Estos farnesenos están ausentes en la vesícula urinaria; sin embargo, son los mayores componentes volátiles de la matriz lipídica de la glándula prepucial del ratón; mientras que el 3,4-dehidro-*exo*-brevicomín y el 2-*sec*-butildihidrotiazol son abundantes en la vesícula urinaria. La combinación de la secreción de la vesícula urinaria y de la glándula prepucial resulta más efectiva para promover la agresividad de los animales dominantes o de aquellos que han sido entrenados para luchar en modelos de agresión (12).

Si bien el origen biosintético de las feromonas no está aún claro, parece existir una similitud estructural entre algunos compuestos aislados e identificados en las plantas y los compuestos volátiles encontrados en la orina de los ratones. Es posible preguntarse, entonces, si existe una cierta secuencia evolutiva de las semejanzas estructurales entre los compuestos hallados en ambas especies, incluyendo a los insectos. Por ejemplo, algunas de las sustancias volátiles que confieren a las plantas y flores gran parte de su fragancia son miembros de los compuestos llamados terpenos. De hecho, el término terpeno es derivado de trementina, un líquido volátil obtenido de los pinos. Además, es reconocido que algunos de estos compuestos excretados por plantas repelen a los insectos y por consiguiente actúan protegiendo a las mismas plantas (26). En el ratón, los farnesenos identificados por Novotny y colaboradores parecen actuar como semioquímicos aversivos para los animales subordinados (22).

El papel que los semioquímicos desempeñan en la comunicación química en diferentes especies de animales posee una significancia biológica relevante para entender muchas pautas de comportamiento, además de la habilidad que posee el órgano vomeronasal para reconocer dichas moléculas y procesar esa información que finalmente desencadenará una respuesta conductual ligada a la comunicación feromonal.

Recepción de las señales químicas.

La comunicación química involucra tanto la producción como la recepción de las señales químicas (13). En los mamíferos, la percepción sensorial olfatoria está mediada anatómicamente y funcionalmente por dos distintos órganos sensoriales: el epitelio olfativo principal y el órgano vomeronasal (27). De manera particular, se ha sugerido que las feromonas son detectadas a través del órgano vomeronasal. Este órgano contiene receptores acoplados a la familia de las proteínas G. Cada receptor tiene 7 dominios transmembranales, localizados sobre las microvellosidades de neuronas olfativas sensoriales bipolares, las cuales permiten el análisis molecular de distintas feromonas volátiles y no volátiles (28). Los receptores vomeronasales activan la fosfolipasa, la cual a su vez genera 1,4,5-trifosfato de inositol (IP₃) (29). Estos segundos mensajeros abren los canales de Ca²⁺ o Na⁺ y modulan los niveles intracelulares libres de Ca²⁺, todo lo cual promueve la comunicación sináptica desde el axón de la neurona vomeronasal hasta el bulbo olfatorio accesorio (30).

En la rata, la estimulación del órgano vomeronasal con preparados de orina de macho, induce la activación de los subtipos de proteínas G (G_i y G_s), así como una acumulación de IP₃ (29); la estimulación con una molécula volátil lipofílica es capaz de activar sólo a las proteínas G_i, en tanto que la activación de la proteína G_s se ve facilitada por la globulina alfa-2, una proteína lipocalina presente en la orina de la rata (31), lo que significa que existen receptores selectivos para

cada una de las posibles moléculas odoríferas presentes en la orina de los roedores. Incluso seis feromonas que han sido detectadas en la orina de ratones, como la 2,5 dimetilpirazina, el 2-*sec*-butil-4,5-dihidrotiazol, el 2,3-dehidro-*exo*-brevicomín, los farnesenos E,E--farneseno y el E, -farneseno, la 2-heptanona- y la 6-hidroxi-6-metil-3-heptanona, provocan respuestas excitatorias sólo en neuronas vomeronasales con lo cual se genera un potencial de acción que se asocia a la entrada de Ca²⁺. Notablemente, se requiere de una cantidad muy baja del sustrato para activar a los receptores vomeronasales que responden a estas sustancias (10⁻¹¹ M), lo cual indica la gran sensibilidad del órgano vomeronasal para detectar feromonas presentes en la orina de ratones (32). De esta manera, se han detectado dos familias de receptores vomeronasales (VIR y V2R) los cuales están acoplados a la familia de las proteínas G_{α12} y G_{αo}, respectivamente. Los receptores VIRs se localizan en la porción apical del órgano vomeronasal; mientras que los V2Rs se encuentran expresados en la porción basal de este órgano. Así, se ha sugerido que las señales semioquímicas de la hembra activan preferencialmente a los receptores VIR del ratón macho (29).

Por otro lado, durante mucho tiempo se consideró inexistente el órgano vomeronasal en los humanos (33) y aunque todavía existe incertidumbre de que este órgano en el humano detecte feromonas, es muy posible que esa sea su función. Se han recabado evidencias que indican que el órgano vomeronasal está presente en la mayoría, si no es que en todos los humanos. García-Velasco y Mondragón (34) examinaron la mucosa olfativa de 1000 pacientes durante reconstrucciones quirúrgicas de la nariz y encontraron órganos vomeronasales en todos los casos. Igualmente, Moran y colaboradores (35) reportaron la presencia de residuos vomeronasales en 200 sujetos, hombres y mujeres de diferentes edades y razas. El análisis ultraestructural del órgano vomeronasal realizado en fetos, cadáveres y en pacientes que se sometieron a cirugía plástica,

reveló la presencia de dos elementos receptores potenciales que posiblemente constituyen un sistema de detección feromonal en los humanos (36). Por otro lado, la administración de una vomeroferina a humanos sanos, llamada PDD (pregna-4,20-diona-3,6-diona), a concentraciones de 10^{-10} a 10^{-8} M, decrementa el ritmo de la respiración y de la frecuencia cardíaca, al tiempo que se registra un aumento de las ondas cerebrales alfa del electroencefalograma, indicando que el sujeto se encuentra en un estado de relajación. Además, se observó un decremento significativo de la hormona luteinizante y de la hormona folículo estimulante en el plasma de los sujetos que participaron en dicho estudio (37). Finalmente, Bulger y colaboradores (38) describieron dos genes humanos muy parecidos a los responsables de la síntesis de las proteínas receptoras del órgano vomeronasal de las ratas, el lugar donde se acoplan las feromonas. Asimismo, se ha demostrado que existen ciertos cambios de voltaje en las células del órgano vomeronasal humano, cuando al hombre se le somete a una feromona femenina y viceversa (39). Estos hallazgos permiten suponer la existencia de una posible vía funcional vomeronasal-hipófisis en adultos humanos y se ha sugerido que tal vez sea posible crear medicamentos que tengan un efecto directo sobre el órgano vomeronasal. Al respecto, este grupo de investigadores apoyan la idea de que los compuestos que actúan sobre el órgano vomeronasal podrían algún día emplearse en lugar de los medicamentos que se usan ahora para reducir la testosterona en enfermos de cáncer de próstata, o de los que disminuyen la hormona luteinizante y la testosterona en las mujeres que padecen de ovarios poliquísticos. Asimismo, consideran que el uso de las llamadas vomeroferinas podrían rociarse directamente en el órgano vomeronasal para el tratamiento de trastornos emocionales como la ansiedad generalizada, ya que inducen un estado inmediato de relajación (37,39,40,41). Estas evidencias, soportan la idea de que esta estructura no ha involucionado y muy posiblemente constituya un

sistema de comunicación feromonal en los humanos (42).

Efectos de la comunicación feromonal en ratas y ratones estudiados en el laboratorio experimental.

En el ratón doméstico *Mus musculus*, los mensajeros químicos parecen jugar un papel relevante en el comportamiento social y reproductivo (20). Aunque se ha determinado que esta especie de ratón tiene diferentes fuentes potenciales y conocidas de mensajeros químicos provenientes de diversas glándulas, la orina constituye una de las fuentes de feromonas más rica y estudiada. La sincronización del estro (43), la aceleración de la pubertad (44), el bloqueo de la fecundación (45), el reconocimiento entre grupos e individuos (46), la agresión (47), el miedo y el estrés (7,14), la histocompatibilidad relacionada con la preferencia al apareamiento (48), entre otros, parecen estar bien documentados y relacionados con la orina como una fuente de información química que modula la comunicación intraespecífica en los roedores (20).

Comunicación feromonal en la conducta reproductiva de ratas y ratones.

En los ratones han sido descritos fundamentalmente cuatro efectos directamente relacionados con la reproducción, los cuales son facilitados por medio de la orina que actúa a su vez como un vehículo de la feromona promotora y que va a actuar sobre el sistema endócrino del individuo receptor.

Desde hace tiempo se conoce que cuando se alojan juntos cuatro o más ratones hembras, en ausencia de machos, sus ciclos de estro se vuelven irregulares, se reducen y a la larga se detienen. A este fenómeno se le conoce como efecto Lee-Boot (49). Si este grupo de hembras es expuesto al olor de un macho o, específicamente, de su orina, sus ciclos estrales comienzan de nuevo, y tienden además a sincronizarse. A este fenómeno se le da el nombre de efecto Whitten (43). Además, si la

orina del macho, en una dosis de 0.3 mL por día durante ocho días es aplicada en la narina de una hembra, el peso de su útero se duplica (50), lo que significa que la comunicación feromonal del macho induce cambios fisiológicos en el sistema reproductivo de la hembra.

Otro fenómeno provocado por feromonas, es el efecto Vandenberg, que consiste en el aceleramiento del inicio de la pubertad de un ratón hembra inducido por la sola presencia del olor de un ratón macho (43). Incluso, si se les aplican dosis diarias de 0.001 mL de orina de macho a hembras, se induce aceleración de la pubertad y dicho efecto no se pierde en una dilución de 1:100,000; lo que indica, que la señal química es activa aún a concentraciones muy bajas (51). Por otro lado, el efecto Bruce (45,52) es un fenómeno que tiene lugar cuando una ratona recién preñada encuentra un ratón macho distinto de aquel con el que copuló, entonces es muy probable que sufra una interrupción de la gestación. Este efecto es provocado también por una sustancia presente en la orina de machos intactos pero no en la de aquellos que fueron castrados.

Tanto los efectos Whitten como Vandenberg son supuestamente provocados por una feromona presente sólo en la orina de los machos adultos intactos, ya que la orina de un macho joven o castrado no tiene estos efectos. Lo que se demostró cuando la feromona aceleradora de la pubertad fue encontrada de nuevo en la orina de machos castrados, 60 h después de la aplicación de 1.0 mg de propionato de testosterona. Asimismo, la orina de ratonas, que normalmente es inactiva, adquiere actividad feromonal cuando son inyectadas con testosterona (53). Pareciera entonces, que la producción de feromonas requiere de la presencia de testosterona. Sin embargo, cuando a ratones machos castrados se les extirpa el órgano vomeronasal no es posible desencadenar los efectos Lee-Boot, Whitten o Bruce a pesar de administrarles propionato de testosterona (54, 55), lo que indica claramente la participación del olfato en el proceso.

En las ratas macho y ratones, la glándula prepucial es la responsable de los olores en la orina que resultan atractivos para las hembras (56-58). Esta glándula es muy sensible a los andrógenos y se dilata de manera sobresaliente cuando se aproxima la madurez sexual (59). Las fracciones lipídicas de las secreciones de la glándula prepucial contienen alquilacetatos, los cuales son atractivos para las ratas hembras; mientras que el dimetildisulfide y el dimetilsulfito, también presentes en extractos de tejido prepucial, son compuestos atractivos sólo para las ratas y ratones macho (6); pero, los ratones hembras gestantes no son atraídos por los olores prepuciales de los machos (60). Esto es de gran relevancia biológica, ya que la orina del ratón macho contiene una feromona promotora, la 2,5-dimetilpirazina, la cual bloquea la fecundación. Esta misma sustancia se encuentra ausente en hembras durante la gestación y la lactancia, pero su contenido urinario incrementa significativamente en un grupo de ratonas cuando viven juntas, en ausencia de un macho (16).

Comunicación feromonal en la agresión y territorialidad en ratas y ratones.

El ratón doméstico macho *Mus musculus* y otras cepas de ratones como la C57BL/6J se caracterizan por ser extremadamente agresivos y territoriales (22, 61). La posibilidad de la conducta agresiva existe siempre y cuando los intereses de dos o más individuos entran en conflicto. La agresividad de un ratón puede ser fácilmente inducida en el laboratorio experimental por medio de un modelo de agresión denominado "intruso-residente" (61). El procedimiento metodológico empleado en este modelo, consiste en que a uno de los machos se le permite el acceso exclusivo a un territorio de vivienda. El concepto de territorio hace referencia a aquel espacio que el animal ha reservado para sí, en donde se restringe su comportamiento y cuyos límites son rígidamente defendidos contra cualquier "intruso" conoespecífico que intente sobrepasarlos (62). Al

estudiar colonias de ratones, se ha observado que a pesar de las grandes densidades que llegan a tener las poblaciones de ratones en ciertas áreas, el número de territorios permanece constante, lo cual obliga a los ratones jóvenes a la migración, pues cada territorio usualmente está constituido por varias hembras en edad reproductiva y sus crías, algunos machos subordinados y de un sólo macho territorial dominante sobre todos ellos (63). La comunicación intraespecífica modulada por medio del marcaje urinario tiene funciones potenciales para mantener estos status sociales dentro del grupo así como la interacción entre sus conespecíficos.

Novotny y colaboradores (12, 17, 21) determinaron la presencia de dos compuestos volátiles, los terpenos E, E-alfa y el E-beta farneseno en la orina de ratones macho dominantes. Al parecer estos dos compuestos desempeñan un papel importante en el marcaje territorial. Los machos subordinados escapan de las secciones del área de un campo abierto que ha sido marcado con estos terpenos provenientes de la orina de un macho dominante. Por lo cual se ha sugerido, que estos farnesenos pueden ser considerados como candidatos semioquímicos urinarios potenciales para modular el comportamiento social y territorial dentro del grupo y muy posiblemente estén actuando como señaladores aversivos para los ratones sumisos o subordinados (22).

El comportamiento del marcaje territorial por medio de la orina parece ser dependiente del status social del macho, de su nivel de testosterona y de un órgano vomeronasal intacto. Por ejemplo, cuando se extirpa el órgano vomeronasal se suprime totalmente la conducta agresiva de los ratones machos forzados a luchar en el modelo intruso-residente (64-66). Asimismo, el comportamiento agresivo es eliminado por la ablación del bulbo olfativo (45), pero se conserva en el ratón al que se le han removido quirúrgicamente los ojos o las vibrisas (46). En consistencia, cuando un grupo de ratas bulbectomizadas son reunidas para vivir en grupo,

carecen de respuestas agonísticas espontáneas típicas entre los machos, es decir, no establecen territorialidad, ni luchas ritualizadas en las cuales deben existir los dos componentes etológicos de la agresión, la ofensa y la defensa (67), ya que no despliegan un comportamiento social y no se observan cicatrices en el cuerpo que indiquen el antecedente de peleas para establecer jerarquías (68). Así, la olfacción parece jugar un papel crítico en el comportamiento social. En concordancia, se ha determinado un incremento de la actividad del gen que codifica para la proteína *c-fos* en el órgano vomeronasal de animales sometidos a una confrontación social (69), lo que es un indicador de una respuesta local al estrés posiblemente relacionada con el miedo que comúnmente ha sido asociada con la agresión intraespecífica. Por ejemplo, Müller-Valten (14) en 1966 sugirió que los cambios en el olor corporal entre conespecíficos deben ser el resultado de las confrontaciones que tienen en cada contienda (por ejemplo, victoria o derrota); así Carr y colaboradores (14) demostraron que los ratones de la cepa C57Bl/6J prefieren olores de un ratón que resulta victorioso en una confrontación que los del perdedor.

Estos resultados indican que la expresión de la agresión y de aquellos comportamientos que la acompañan, son dependientes de la presencia de un sistema vomeronasal intacto modulado por feromonas presentes en la orina de ratones (12,17). En síntesis, existen diversos eventos conductuales (cuadro 1) que son influenciados por feromonas (fig. 1) dependientes de un órgano vomeronasal intacto.

Así, la comunicación feromonal en la conducta reproductiva y social parece estar estrechamente relacionada con los niveles de andrógenos y el status social de los ratones machos (70,71). Lo anterior quedó demostrado cuando un grupo de ratones machos adultos fueron expuestos a otro grupo de ratones entrenados para pelear por un periodo de una semana. La orina de los luchadores entrenados, que en todos los casos fueron dominantes y la de los derrotados (subordinados),

Cuadro 1
Compuestos químicos con actividad feromonal en ratas y ratones, implicados en conductas reproductivas y sociales dependientes de un sistema vomeronasal intacto.

Compuesto*	Origen	Función como señal química	Referencia
2-Heptanona 4-Heptanona 2-Hexanona	Orina de ratones hembra y machos	Aceleración de la pubertad y prolongación de la duración del estro (efecto Vandenberg)	15, 16, 19, 32.
2,5-dimetilpirazina n-pentil acetato cis-2-acetil penteno	Orina de rata y ratón hembra	Inhibición de la pubertad en hembras púberes (Efecto Lee-Boot).	15, 19.
2-sec-butil-4,5-dihidrotiazol 2,3-dehidro-exo-brevicomín	Vejiga urinaria de ratones machos	Actúan sinérgicamente para: a) Promover la agresión entre machos b) Promover la sincronización del estro (efecto Whitten) c) Aceleración de la pubertad (efecto Vandenberg)	19, 21.
E-E,- α -farneseno E- β -farneseno	Glándula prepucial de ratones machos	Actúan como señales aversivas para el ratón subordinado, provocando disminución del husmeo y de la actividad locomotora. Marcaje territorial Aceleración de la pubertad (efecto Vandenberg)	12, 19, 22, 32.
6-hidroxi-6-metil-3-heptanona	Vejiga urinaria de ratones machos	Aceleración de la pubertad (efecto Vandenberg)	32.
7-exo-etil-5-metil-6,8-dioxabicyclo [3.2.1]-3-octeno	Orina de ratones macho (dependiente de testosterona)	Aceleración de la pubertad (efecto Vandenberg)	20.
trans-4-hepten-2-ona trans-5-hepten-2-ona Dihidrofuranos cis-2-penten-1-il acetato	Orina de ratones hembras	Asociado al ciclo estral. Incrementan su concentración en etapa de proestro-estro, en la gestación y en lactancia.	15,16.
2,5 dimetilpirazina	Orina de hembras	Se encuentra ausente durante la gestación y la lactancia y se reduce significativamente en el estro (sustancia inhibitoria).	16.

*Identificados por métodos de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC capilar/MS).

fue aplicada en la nariz de ratones hembra púberes. Únicamente la orina de los ratones dominantes aceleró el comienzo de la pubertad en las ratonas; mientras que la orina de los ratones subordinados careció de efectos (72). En otro estudio, se clasificó a los machos como dominantes, de segundo y

tercer grado, y los subordinados. Igualmente se encontró que la orina de los machos dominantes provocó aceleración de la pubertad; los machos de menor rango tuvieron un efecto intermedio; y la orina de los machos subordinados no tuvo efecto para provocar el comienzo de la pubertad en las

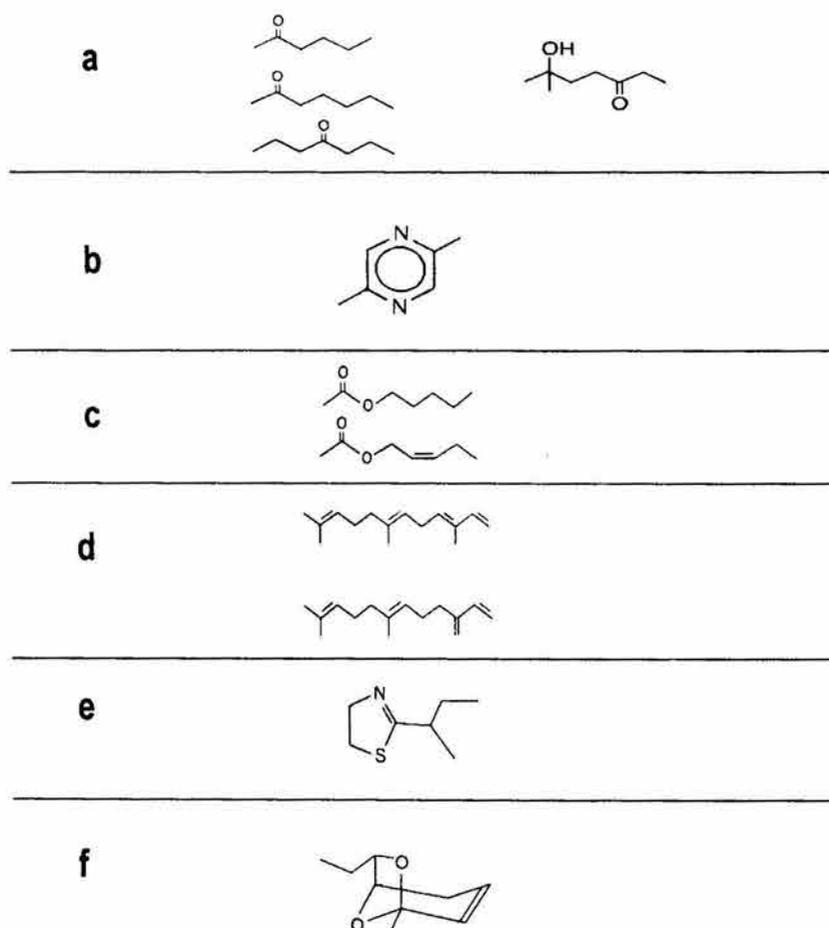


Figura 1.- Estructura química de algunos de los compuestos urinarios que poseen actividad semioquímica en el ratón (para mayor información, ver 19). Se han identificado algunas cetonas como: a) 2-hexanona, 2-heptanona, 4-heptanona y ϵ -hidroxi-6-metil-3-heptanona; b) pirazinas como la 2,5-dimetilpirazina; c) ésteres como: *n*-pentil acetato, *cis*-2-pent-1-yl acetato; d) algunos terpenos como: E-E- α -farneseno y E- β -farneseno; e) tiazoles como el 2-sec-4,5-dihidrotiazol; y f) otros como el 3,4-dehidro-exo-brevicomín.

hembras (73). Al respecto, se ha demostrado que las hembras tienden a evitar aquellas áreas donde se localizan los ratones subordinados o no agresivos, exhibiendo preferencias por deposiciones de ratones agresivos o dominantes; mientras que los machos tienden a evitar olores de ratones no agresivos (74). Esto sugiere que los semioquímicos relacionados con el comportamiento agresivo y la capacidad sexual, están relacionados con el funcionamiento testicular; mismos que las hembras detectan por medio de la olfacción, lo cual influye decisivamente en sus preferencias y probablemente en la elección de un

compañero sexual.

Los efectos de los factores sociales sobre los ciclos ováricos no están limitados a los ratones. Es probable que también el olfato sea un componente importante en la conducta sexual humana. Existe al menos un informe clínico sobre mujeres con ausencia congénita de bulbos olfatorios que reveló una incidencia notablemente superior de hipoplasia ovárica (75). Otro síndrome llamado de Kallman, que se presenta principalmente en hombres, se caracteriza por hipogonadismo hipogonadotrópico acompañado de anosmia (76). Estos sujetos son estériles y en su caso, su déficit

sensorial no resulta afectado directamente por las hormonas, sino más bien por una afección congénita que bloquea el desarrollo normal tanto de los bulbos olfatorios como de la función endocrina.

En tanto que, las mujeres que viven juntas durante periodos prolongados a la larga sincronizan sus ciclos menstruales, aquellas que pasan un tiempo regular en presencia de hombres tienden a tener ciclos menstruales más breves que aquellas que pasan menos tiempo con hombres (2). De manera particular, los estímulos sociales, especialmente los que se perciben como estresantes, pueden influir en los ciclos menstruales de las mujeres. Por ejemplo, los eventos que producen tensión, desde el inicio de cursos estudiantiles al encarcelamiento, pueden asociarse a la suspensión de los ciclos menstruales (77). Así, un estudio de mujeres premenopáusicas condenadas a muerte en espera de la ejecución, se comprobó que no experimentaban ciclos menstruales (78). Estas observaciones, sugieren que durante situaciones estresantes se emiten estímulos que son percibidos por medio del olfato, los cuales desencadenan alteraciones en las funciones fisiológicas y como consecuencia cambios en el comportamiento.

Comunicación feromonal de alarma en ratas de laboratorio.

Otras funciones que se le han atribuido a las feromonas en roedores sugieren que el olor de las ratas de laboratorio, puede influir en la ejecución de las pruebas conductuales que se emplean en diversos paradigmas de aprendizaje. Por ejemplo, los olores liberados por las ratas durante las fases de recompensa y de extinción en experimentos de aprendizaje pueden interferir con la ejecución de otro animal subsecuente (79). Morrison y Ludvigson (80), trabajando con ratas en un laberinto en "T", lograron que la elección dependiera de la capacidad para discriminar un aroma de reforzamiento o de no reforzamiento en el punto de la elección. Si el olor -de existir- es un

estímulo discriminativo, el animal debería escoger un corredor particular del laberinto cuando el olor estuviera presente y recibir reforzamiento por ello. Los resultados indicaron que solamente aquellos grupos que tuvieron el olor de ausencia de recompensa como indicador, mostraron aprendizaje por discriminación. Al parecer la ausencia de reforzamiento tiene asociado consigo un olor distintivo que el reforzamiento no tiene. Además, parece que el olor del no reforzamiento es aversivo, y los animales procuran evitarlo. Collerain y Ludvigson (81) llevaron a cabo una serie de experimentos que demostraron que las ratas aprenden a escapar de un compartimento en el que otra rata ha experimentado ausencia de reforzamiento, por lo que dieron el nombre de "aroma de frustración" al olor que se produce durante el no reforzamiento, el cual quizá pueda tratarse de un señalador químico aversivo.

Para que estas sustancias sean reconocidas como señaladores aversivos es necesario que exista un reconocimiento entre individuos, que también es mediado por señales químicas. Se ha demostrado que los animales aprenden a temprana edad a discriminar olfativamente las características de sus conespecíficos de una manera análoga a lo que sería la impresión visual (82). Todrank y colaboradores (83), han sugerido que las interacciones sociales entre los individuos que forman un grupo son necesarias para discriminar olores entre individuos conocidos. Luego entonces, los ratones forman una imagen química que incluye la distribución espacial y ambiental de sustancias químicas para la transferencia de información entre sus conespecíficos (6), lo cual sugiere que existe una sensibilización del sistema olfatorio a los olores propios de la especie; de esta manera el adulto puede reconocer el sexo y el parentesco con otro sujetos e incorporar en las señales que permiten este reconocimiento otro tipo de pistas tales como las vocalizaciones ultrasónicas y algunas pautas conductuales.

Uno de los descubrimientos más reconocidos con relación a las señales químicas es que los

ratones de cepas consanguíneas pueden discriminar olores de ratones que difieren genéticamente en una región cromosomal ocupada por genes que también codifican para el sistema inmune (48). Es decir, el olor que desprende un animal está determinado en parte por sus genes. Este complejo de genes, conocido como Complejo Mayor de Histocompatibilidad, no sólo comparte funciones inmunológicas importantes para el reconocimiento de la superficie de la célula en desarrollo (84), si no también la fuente de información quimiosensorial presente en la orina que permite a los ratones identificar a uno u otro como individuo (85). Esto es, aquellos ratones que difieren genéticamente sólo en una región cromosómica implicada en funciones inmunológicas, se reconocen unos a otros por el olor, lo que significa que los genes de histocompatibilidad confieren un olor característico y por tanto, permiten el reconocimiento y enriquecimiento del acervo genético, así como el reconocimiento de señales especie-específicas. Hayashi y Kimura (86) han mostrado que en ratones el aprendizaje infantil de los olores está asociado a la evitación del incesto, es decir, las hembras eluden aparearse con machos que huelan como sus padres o hermanos. Entonces, los olores determinados por los genes del complejo mayor de histocompatibilidad juegan un papel importante en las interacciones familiares en muchas especies, incluyendo el humano. La investigación reciente ha demostrado el papel que estos genes desempeñan para el reconocimiento madre-infante en los humanos, lo cual en parte está mediado por la olfacción. Además de que existe el reporte de antecedentes de abortos recurrentes espontáneos en parejas que comparten antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (85,87).

Así mismo, es reconocido que las ratas liberan de manera innata olores que son reconocibles para sus conespecíficos en respuesta a una variedad de eventos aversivos naturales y no naturales (88,89); por ejemplo, en respuesta a choques eléctricos en las patas, las ratas liberan olores que sus conespecíficos son capaces de discriminar de

aquellos olores de ratas no estresadas (90). Las ratas de la cepa Sprague-Dawley, cuando son expuestas a olores de ratas estresadas por choques eléctricos en las patas, despliegan reacciones de evitación y tienen mayor preferencia por los olores de conespecíficos no estresados (91). Así mismo, los ratones de la cepa C57Bl/6J prefieren los olores de ratones que no han sido estresados con choques eléctricos en las patas pero no es así con un ratón que recibió 10 choques (1mA, 5 seg) durante 5 min, en un periodo de diez días consecutivos (14). En este mismo sentido, Fanselow (92), demostró que en las ratas que son expuestas a olores de ratas que recibieron choques eléctricos en las patas, se produce analgesia que es revertida por la administración de naloxona, un antagonista no específico a receptores a opiodes; así, estos mecanismos analgésicos endógenos son activados como parte del componente defensivo de los sistemas motivacionales de protección ante eventos aversivos.

Recientemente, se ha demostrado que la producción de opioides endógenos en el sistema nervioso es particularmente sensible a las influencias feromonales (93). Los opioides tienen un papel importante en la modulación inmune, y al parecer la exposición a los olores de animales estresados induce la secreción de opioides endógenos, acompañada por un incremento en las respuestas antígeno-anticuerpo. Por ejemplo, los ratones BALB/c expuestos a olores emanados por ratones estresados por medio de choques eléctricos en las patas incrementan las respuestas de anticuerpos y la producción esplénica de interleucina (IL)-4 después de la inmunización con células T dependientes de antígeno en comparación con los ratones expuestos a olores de conespecíficos que no fueron estresados (94). Cocke y Thiessen (95) concluyeron al respecto, que los olores emanados de ratas estresadas por choques eléctricos en las patas, incrementan la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal de las ratas conespecíficas expuestas a dicho olor, este incremento a su vez suprime la función inmune,

inhibiendo la producción de interleucina (IL)-2 y la proliferación de linfocitos T. Estos estudios explican el porque los ratones que son expuestos a olores de conespecíficos estresados son más vulnerables a sufrir enfermedades atribuidas a condiciones de estrés prologado y constituyen un modelo para el estudio del estrés psicosocial en roedores (96).

Con estas evidencias, de manera general, podemos considerar a las sustancias bioquímicas de intercomunicación que advierten de un riesgo o informan de un peligro, como alarmógenas ya que tienen un efecto directo, inmediato y reversible en el comportamiento de otros individuos de la misma especie y pueden producir, entre otros, cambios endócrinos y evocar un comportamiento defensivo y evasivo ante un enemigo en potencia. Este tipo de comunicación de alarma ha sido observado principalmente en los insectos (31), en ciertos peces (7) e incluso en las lombrices (97). Las feromonas de alarma tienen una gran trascendencia para los insectos sociales, ya que estas sustancias les comunican la presencia de un peligro (28), por ejemplo.

Una evidencia clásica demostrativa de la existencia de las citadas sustancias, la debemos a las experiencias de Karl von Frisch (24) con un pez, *Phloxinus leavis*, el cual al separarlo de un banco normal comunitario, se le lesionó ligeramente, y al intentar retonarle a su comunidad, se observó dispersión del grupo, posiblemente por la simple presencia del herido. En una serie de observaciones, Frisch demostró que el estímulo de dispersión en *Phloxinus* es una sustancia hidrosoluble, llevada por las aguas y que la intensidad dispersiva -es decir la respuesta a la señal bioquímica- varía con la concentración de la misma y también con el estado fisiológico del receptor.

Aunque Von Frisch fue el primero en describir una sustancia de alarma en el pez y posteriormente otros estudios llevados a cabo en insectos indicaron la presencia de este tipo de sustancias, en los mamíferos ha sido poco explorado. Causa sorpresa la escasez de estudios críticos disponibles sobre la

presencia y caracterización química de las feromonas de alarma en los mamíferos, tanto más cuando el comportamiento evasivo en muchas especies se conoce desde antaño y se le induce con relativa facilidad, haciendo posible un ensayo bioquímico específico (24).

Los primeros estudios relacionados con las sustancias de alarma en ratas y ratones son los de Müller-Velten (14) que muestran como el ratón puede evitar áreas o compartimentos que aún tengan el olor de animales que hayan sido estresados y prefieren áreas que no contengan aromas. Los ratones despliegan una reacción de huida en respuesta al olor de conespecíficos estresados, pero no del de otras especies. Asimismo, cuando un área ha sido impregnada con la orina de una rata estresada, continúa evocando una reacción de huida por otros animales de la misma especie, inclusive varias horas después. Existen otras evidencias de que la orina de un ratón estresado es suficiente para causar en un ratón de prueba la elección de una vía no olorosa (7, 91) e incluso las ratas albinas son capaces de discriminar entre el olor de una rata estresada por choques eléctricos en las patas del de otras no estresadas (90).

Por otra parte, las ratas estresadas emiten olores que pueden estimular o inhibir la actividad general de otras ratas (4,98, 99). Por ejemplo, Abel y Hannigan (100), han sugerido la existencia de feromonas de alarma en la prueba de nado forzado. Cuando las ratas son forzadas a nadar, emiten una conducta de inmovilidad, la cual ha sido interpretada como una conducta de desesperanza, ya que las pautas conductuales indicadoras de la búsqueda de una salida, bien pueden considerarse como un indicador del estado motivacional de los animales para resolver una situación de apremio (101). Así, la inmovilidad se reduce cuando los animales son pretratados con fármacos antidepressivos como los tricíclicos, los inhibidores de la monoaminooxidasa, los antidepressivos atípicos, e incluso con los tratamientos no farmacológicos como el electrochoque (101-104). En la prueba de nado

forzado, las ratas exhiben un decremento en la inmovilidad cuando no se cambia el agua del estanque entre una prueba y otra, es decir entre una rata y otra (105). Abel y colaboradores (1, 100, 105) suponen la existencia de una feromona de alarma, cuyo concepto incluye aquellas señales químicas especie-específicas las cuales propician un comportamiento claro e inmediato, con un mínimo de la experiencia y cuyos efectos no se deben a un alertamiento inespecífico. Este grupo apoya la idea de que la inmovilidad en la prueba de nado forzado, más que representar una desesperanza conductual constituye una respuesta de afrontamiento al estrés, ya que cuando las ratas han pasado por una sesión de estrés previa al nado forzado, por choques en las patas o por ruido intenso, la inmovilidad tiende a decrementar (105), lo que ha sido interpretado como una alta reactividad o miedo (1). Por lo tanto, la disminución de la inmovilidad en las ratas que nadan en un estanque donde previamente han nadado otras, puede deberse a un estado de ansiedad o miedo favorecido por la presencia de una sustancia de alarma de baja volatilidad presente en el agua (1). El incremento de la actividad observada en la prueba de nado forzado no parece constituir una respuesta exploratoria, sino una respuesta de escape, similar a la respuesta de huida que exhiben los animales que son sometidos a otros contextos en donde están presentes feromonas de alarma (106), por ejemplo, las respuestas de escape que exhiben las ratas cuando se les introduce en un área que previamente fue ocupada por ratas estresadas por choques eléctricos en las patas (5,7, 18, 106).

Comentarios y conclusiones.

En ratas y ratones, se han bioensayado e identificado estructuralmente una gran cantidad de sustancias, algunas de ellas de naturaleza volátil, que tienen como función mediar la comunicación química entre individuos de la misma especie. Así, se les ha involucrado en la agresión, en el apareamiento y la reproducción, en la identificación

entre grupos y entre individuos, en la organización social, en el marcaje territorial, en respuestas de huida ante situaciones aversivas, entre muchas otras conductas. Estas sustancias químicas no sólo están presentes e influyen la vida de los roedores, sino también al parecer la del hombre. Si bien, aún no existen muchas evidencias que indiquen que el órgano vomeronasal humano en realidad cumpla funciones fisiológicas importantes, su presencia en la cavidad nasal sugiere una actividad biológica. En la actualidad se conoce la ultraestructura de la mucosa olfativa y su excepcional morfología, la cual ha sido estudiada, incluso mediante microscopía electrónica. Sin embargo, cuando se realiza un balance de los conocimientos sobre la integración de la información olfativa en el sistema nervioso central aún resulta incompleto, pues aún es difícil relacionar los estudios moleculares y electrofisiológicos con el comportamiento (107). Sin embargo, a pesar de estas limitaciones es importante reconocer que la fisiología de la olfacción ha sido un modelo para el estudio de los numerosos sistemas sensoriales. Además, la entrada olfatoria fue una de las primeras vías de acceso conocidas para el sistema límbico, la base orgánica de nuestras emociones. Y si bien, hoy en día se sabe que muchas de las estructuras que conforman el llamado *rinencéfalo* (la amígdala, el hipocampo, la corteza entorrinal y la corteza pericallosa), todas ellas tienen funciones de integración multisensorial y no sólo la olfacción (107); no obstante, existen evidencias de que muchos comportamientos muy primitivos como la conducta sexual, la agresión, la furia y la huida están mediados por sustancias químicas odoríferas que necesariamente tienen su recepción en el sistema olfativo para después ser procesadas por estructuras límbicas que modulan estos comportamientos. Cabe mencionar que el sistema olfativo tiene proyecciones importantes directas hacia el sistema límbico y pocas hacia la neocorteza, es decir, la comunicación olfativa existe, aún, cuando no nos damos cuenta, lo cual sugiere que una variedad de sustancias odoríferas pueden estar asociadas a muchos estados afectivos

en todos los animales incluyendo al hombre.

Estos estudios explicarían en parte, por qué en la orina y en la piel del humano se han encontrado compuestos que podrían estar desempeñando un papel importante en la comunicación feromonal y en los estados afectivos. Un ejemplo claro lo constituyen algunas anormalidades metabólicas que modifican el olor del cuerpo y de la orina. Esta alteración conocida como "síndrome del olor a pez", provoca un olor extremadamente aversivo y desagradable para los individuos que rodean al paciente, quienes los rechazan socialmente. Muchas de éstas personas mueren, no por su alteración metabólica, sino por las reacciones psicosociales que el olor les provoca, al grado de que muchos de ellos han llegado al suicidio (108). Asimismo, existen casos que demuestran cómo algunas patologías como la esquizofrenia y la depresión, principalmente la de tipo endógeno, están asociadas con una alteración conocida con el nombre de "síndrome derilante olfatorio" (109). Las ideas delirantes y alucinaciones olfativas desagradables que experimentan estos pacientes se exacerban en situaciones sociales, las cuales son revertidas cuando se administran tratamientos combinados de fenotiazinas con antidepresivos tricíclicos como la imipramina. Se reconoce que ambos trastornos son biológicamente heterogéneos y se desconocen diversos aspectos de su fisiopatología; sin embargo, en ambos existen alteraciones que involucran a varios sistemas de neurotransmisión y estructuras límbicas, por lo que la esfera afectiva se encuentra gravemente alterada.

Por último, a pesar de que la aromaterapia es cuestionada, la historia guarda una infinidad de anécdotas donde los olores tienen un papel importante. Es sabido desde los tiempos de los griegos, que Teofrasto, considerado como el primer aromaterapeuta, escribió un tratado de lo "relativo a los olores", en el cual analizaba los efectos de los distintos aromas sobre el pensamiento, el sentimiento y la salud. Otro ejemplo es Jean-Baptiste Grenouille, el protagonista del libro "El

perfume", quien se obsesiona por lograr el aroma ideal que hechizará a la humanidad. Un relato que hace despertar las sensaciones olfativas más desagradables y agradables, sugestionando al lector; o el "mundo feliz" de Huxley, quien describe una atmósfera de aromas de bienestar y relajación para sus habitantes.

Hemos revisado algunas de las explicaciones científicas sobre la química que producen los olores en las ratas y ratones de laboratorio, pero aún es motivo de estudio su participación en el mundo sensorial del humano, el cual ha sido sometido al imperio de las imágenes y los sonidos, donde uno de los sentidos más primitivos, como lo es el olfato, ha quedado muchas veces relegado.

AGRADECIMIENTOS.

Se agradece a Irene Marquina por revisar el resumen en el idioma inglés. Asimismo, AGG-G recibió una beca para estudios de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), con registro 150023, así como un apoyo parcial de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-UNAM).

REFERENCIAS.

- 1.- Abel EL. Alarm substance emitted by rats in the forced-swim test is a low volatile pheromone. *Physiol Behav* 1991; 50:723-7.
- 2.- McClintock MK. Menstrual synchrony and suppression. *Nature* 1971; 229:224-45.
- 3.- McClintock MK. On the nature of mammalian and human pheromones. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 855:390-2.
- 4.- Zalaquett C, Thiessen D. The effects of odors from stressed mice on conspecific behavior. *Physiol Behav* 1991; 50:221-7.
- 5.- MaCkay-Sim A. The sources of odors from stressed rats. *Physiol Behav* 1981; 27:511-3.
- 6.- Albone ES. Mammalian semiochemistry. The investigation of chemical signals between mammals. Chichester (New York): John Wiley & Sons; 1984.
- 7.- Rottman SJ, Snowdon CH. Demonstration and analysis

Feromonas y neuroetología.

- of an alarm pheromone in mice. *J Comp Physiol Psychol* 1972; 81:483-90.
- 8.- Regnier FE. Semiochemicals-structure and function. *Biol Reprod* 1971; 4:309-26.
- 9.- Karlson P, Lüscher M. "Pheromones" a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 1959; 183:55-6.
- 10.- Carlson N. *Fundamentos de Psicofisiología Fisiológica*. 3a. ed. México: Prentice-Hall Hispanoamericana; 1996. p. 376-7, 394-405.
- 11.- Müller-Schwarze D. Scent glands in mammals and their functions. En Eisenbergh JF, Kleiman DG, editores. *Advances in the study of mammalian behavior*. Washington: American Society of Mammalogy; 1983. p. 150-97.
- 12.- Novotny M, Harvey S, Jemiolo B. Chemistry of male dominance in the house mouse, *mus domesticus*. *Experientia* 1990; 46:109-13.
- 13.- Vanderbergh JG. Pheromones and mammalian reproduction. En Knobil E, Neil JD, editores. *The Physiology and reproduction*. 2nd. ed. New York: Raven Press; 1994. p. 343-56.
- 14.- Carr WJ, Martorano RD, Krames L. Responses of mice to odors associated with stress. *J Com Physiol Psychol* 1970; 71:223-8.
- 15.- Schwende FJ, Wiesler D, Novotny M. Volatile compounds associated with estrus in mouse urine: potential pheromones. *Experientia* 1984; 40: 213-5.
- 16.- Andreolini F, Jemiolo B, Novotny M. Dynamics of excretion of urinary chemosignals in the house mouse (*Mus musculus*) during the natural estrous cycle. *Experientia* 1987; 43:998-1002.
- 17.- Novotny MV, Xie TM, Harvey S, Wiesler D, Jemiolo B, Carmack M. Stereoselectivity in mammalian chemical communication: male mouse pheromones. *Experientia* 1995; 51:738-43.
- 18.- King MG, Pfister HP, DiGiusto EL. Differential preferences for and activation by the odoriferous compartment of a shuttlebox in fear conditioned and naive rats. *Behav Biol* 1975; 13: 175-81.
- 19.- Novotny M, Jemiolo B, Harvey S. Chemistry of rodent pheromones: molecular insights into chemical signalling in mammals. En MacDonald DW, Müller-Schwarze P, Natynczuk SE, editores. *Chemical signals in vertebrates*. Oxford: Oxford University Press; 1990. Vol. 5:1-22.
- 20.- Novotny M, Schwende FJ, Wiesler D, Jorgenson JW, Carmack M. Identification of a testosterone-dependent unique volatile constituent of male mouse urine: 7 exo-etil-5-metil-6,8-dioxabicyclo(3.2.1)-(3-octano. *Experientia* 1984; 40:217-20.
- 21.- Novotny M, Harvey S, Jemiolo B, Alberts J. Synthetic pheromones that promote inter-male aggression in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:2059-61.
- 22.- Jemiolo B, Xie TM, Novotny M. Urine marking in male mice: responses to natural and synthetic chemosignals. *Physiol Behav* 1992; 52:521-6.
- 23.- Wilson DE, Bossert WA. Chemical communication among animals. *Recent Prog Horm Res* 1963; 19:673-710.
- 24.- Verdejo-Vargas G. *Las Feromonas*. México: Almaria; 1978.
- 25.- Darbio AK. *Cromatografía de gases II*. España: Alhambra; 1973.
- 26.- Pine HS, Hendrickson JB, Cram DJ, Hammond GS. *Química orgánica*. 2a ed. México: McGraw-Hill; 1993. p.892-8.
- 27.- Liman ER, Corey DP, Dulac C. TRP2: A candidate transduction channel for mammalian pheromone sensory signalling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5791-6.
- 28.- Dulac C. Molecular biology of pheromone perception in mammals. *Semin Cell Dev Biol* 1997; 8:197-205.
- 29.- Keverne EB. The vomeronasal organ. *Science* 1999; 286:716-20.
- 30.- Shipley MT, McLean JH, Ennis M. Olfactory System. En Paxinos G, editor. *The rat nervous system*. New York: Academic Press; 1995. p. 899-926.
- 31.- Krieger J, Heinz B. Olfactory reception in invertebrates. *Science* 1999; 286:720-3.
- 32.- Leinders-Zufall, Lane AP, Puce AC, Ma W, Novotny M, Shipley MT, Zufall F. Ultrasensitive pheromone detection by mammalian vomeronasal neurons. *Nature* 2000; 405:792-6.

- 33.- Crosby EC, Humphrey T. Studies of the vertebrate telencephalon. I. The nuclear configuration of the olfactory and accessory olfactory formation and of the nucleus olfactorius anterior of certain reptiles, birds, and mammals. *J Comp Neurol* 1938; 71:121-213.
- 34.- García-Velasco J, Mondragon M. The incidence of the vomeronasal organ in 1000 human subjects and its possible clinical significance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39:561-3.
- 35.- Moran DT, Jafek BW, Rowley JC. The vomeronasal (Jacobson's) organ in man: ultrastructure and frequency of occurrence. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 545-52.
- 36.- Stensaas LJ, Lavker RM, Monti-Bloch L, Grosser BI, Berliner DL. Ultrastructure of the human vomeronasal organ. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39:553-60.
- 37.- Berliner DL, Monti-Bloch L, Jennings-White C, Díaz-Sánchez V. The functionality of the human vomeronasal organ (VNO): evidence for steroid receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 58:259-65.
- 38.- Bulger M, Von Doorninck JH, Saitoh N, Telling A, Farrell C, Bender MA, *et al.* Conservation of sequence and structure flanking the mouse and human γ -globin loci: the γ -globin genes are embedded within an array of odorant receptor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:5129-34.
- 39.- Monti-Bloch L, Díaz-Sánchez V, Jennings-White C, Berliner D. Modulation of serum testosterone and autonomic functions through stimulation of the male human vomeronasal organ (VNO) with pregna-4,20-diene-3,6-dione. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998; 65:237-42.
- 40.- Grosser BK, Monti-Bloch L, Jennings-White C, Berliner DL. Behavioral and electrophysiological effects of androstadienone, a human pheromone. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25:289-99.
- 41.- Monti-Bloch L, Grosser BI. Effect of putative pheromones on the electrical activity of the human vomeronasal organ and olfactory epithelium. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39:573-82.
- 42.- Zbar RI, Zbar LI, Dudley C, Trott SA, Rochrich RJ, Moss RH. A classification schema for the vomeronasal organ in Humans. *Plst Reconstr Surg* 2000; 105:1284-8.
- 43.- Whitten WK. Occurrence of anestrus in mice caged in groups. *J Endocrinol* 1959; 18:102-7.
- 44.- Vandenberg JG, Witsett JM, Lombardi JR. Partial isolation of a pheromone accelerating puberty in female mice. *J Reproduc fertill* 1975; 43:515-23.
- 45.- Bruce HM. A block to pregnancy in the mouse caused by proximity of strange males. *J Reproduc fertill* 1960; 1:96-103.
- 46.- Ropartz P. The relation between olfactory stimulation and aggressive behaviour in mice. *Anim Behav* 1968; 16:97-100.
- 47.- Archer J. The effect of strange male odor on aggressive behavior in male mice. *J Mammalogy* 1968; 49:572-5.
- 48.- Yamazaki K, Boyse EA, Mike V. Control of mating preference in mice by genes in the major histocompatibility complex. *J Exp Med* 1976; 144:1324-30.
- 49.- Van der Lee S, Boot LM. Spontaneous pseudopregnancy in mice. *Acta Physiol Pharmacol Néerland* 1955; 4:442-4.
- 50.- Vandenberg JG, Coppola D. The physiology and ecology of puberty modulation by primer pheromones. En Rosenblatt JS, Beer C, Busnel M, editores. *Advances in the Study of Behavior*. New York: Academic Pres; 1986. p. 71-107.
- 51.- Drickamer LC. Effects of very small doses of urine on acceleration and delay of sexual maturation in female house mice. *J Reprod Fertill* 1984; 71: 475-7.
- 52.- Bruce HM. Further observations of pregnancy block in mice caused by proximity of strange males. *J Reprod fertill* 1960; 2:311-2.
- 53.- Lombardi JR, Vandenberg JG, Whitsett JM. Androgen control of the sexual maturation pheromone in house mouse urine. *Biol Reprod* 1976; 15:179-86.
- 54.- Rowe FA, Edwards DA. Olfactory bulb removal: influences on the aggressive behavior of male mice. *Physiol Behav* 1971; 7:885-90.
- 55.- Halpern M. The organization and function of the vomeronasal system. *Annu Rev Neurosci* 1987; 10:325-62.
- 56.- Bronson FH, Carrom D. Preputial gland of the male

Feromonas y neuroetología.

- mouse: attractant function. *J Reprod Fertil* 1971; 25:279-82.
- 57.- Gawienowski A. Chemical attractants of the rat preputial gland. En Müller-Schwarze D, Mozell MM, editores. *Chemical signals in vertebrates*. New York: Plenum Press; 1977. p. 45-60.
- 58.- Gawienowski AM, Orsulak PJ, Stacewicz-Sapuntzakis M, Joseph BM. Presence of sex pheromone in preputial glands of male rats. *J Endocrinol* 1975; 67:283-8.
- 59.- Ebling FJ. Hormonal control of mammalian skin glands. En Müller-Schwarze D, Mozell MM, editores. *Chemical signals in vertebrates*. New York: Plenum Press; 1977. p. 17-33.
- 60.- Marchlewska-Koj A. Pregnancy blocking by pheromones. En Vanderbergh JG, editor. *Pheromones and Reproduction in Mammals*. New York: Academic Press; 1983. p. 151-73.
- 61.- Blanchard DC, Blanchard RJ. The colony model of aggression and defense. En Dewsbury DA, editor. *Contemporary issues in comparative psychology*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc; 1991. p. 410-30.
- 62.- Hinde RA. Bases biológicas de la conducta social humana. México: Siglo XXI; 1977. p. 259-302.
- 63.- Poole TB, Morgan HDR. Social and territorial behaviour of laboratory mice (*Mus musculus* L.) in small complex areas. *Anim Behav* 1976; 24:476-80.
- 64.- Clancy AN, Coquelin A, Macrides F, Gorski RA, Noble EP. Sexual behavior and aggression in male mice: involvement of the vomeronasal system. *J Neurosci* 1984; 4:2222-9.
- 65.- Maruniak JA, Wysocki CJ, Taylor JA. Mediation of male mouse urine marking and aggression by the vomeronasal organ. *Physiol Behav* 1986; 37:655-7.
- 66.- Guillot PV, Chapouthiera G. Olfaction, GABAergic neurotransmission in the olfactory bulb, and internal aggression in mice: modulation by steroids. *Behav Genet* 1996; 26:497-504.
- 67.- Gutiérrez-García AG, Contreras CM. El comportamiento sumiso: una estrategia conductual defensiva en los animales y en el humano. *Psicología de la Salud* 2000; 10:201-13.
- 68.- Liebenauer LL, Slotnick BM. Social organization and aggression in a group of olfactory bulbectomized male mice. *Physiol Behav* 1996; 60:403-9.
- 69.- Guo J, Zhou A, Moss RL. Urine and urine-derived compounds induce c-fos mRNA expression in accessory olfactory bulb. *Neuroreport* 1997; 8:1679-83.
- 70.- Tollman J, King JA. The effects of testosterone propionate on aggression in male and female C57BL/10 mice. *Anim Behav* 1956; 4:147-9.
- 71.- Barkley MS, Goldman BD. The effects of castration and silastic implants of testosterone on intermale aggression in the mouse. *Horm Behav* 1977; 9:32-48.
- 72.- Lombardi JF, Vandenberg JG. Pheromonally induced sexual maturation in females: Regulation by the social environment of the male. *Science* 1977; 196:545-6.
- 73.- Drickamer LC. Effect of period of grouping of donors and duration of stimulus exposure on delay of puberty in female mice by a urinary chemosignals from grouped females. *J Reprod Fertil* 1983; 69:723-7.
- 74.- Sandnabha NK. Differences in the capacity of male odours to affect investigatory behavior and different urinary marking patterns in two strains of mice, selectively bred for high and low aggressiveness. *Behav Process* 1985; 11:257-67.
- 75.- Mosier HD, Grossman HJ, Dingman HF. Physical growth in mental defectives. A study in an institutionalized population. *Pediatrics* 1965; 36 (Suppl 3):465-519.
- 76.- Schwanzel-Fukuda M, Bick D, Paff DW. Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-expressing cells do not migrate normally in an inherited hypogonadal (Kellmann) syndrome. *Brain Res Mol Brain Res* 1989; 6:311-26.
- 77.- Bachmann GA, Kemmann E. Prevalence of oligomenorrhea and amenorrhea in a college population. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 144:98-102.
- 78.- Petterson F, Fries H, Nillius JJ. Epidemiology of secondary amenorrhea. I. Incidence and prevalence rates. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 117:80-6.
- 79.- Wasserman EA, Jensen DD. Olfactory stimuli and the "pseudo-extinction" effect. *Science* 1969; 166:1307-9.
- 80.- Morrison RR, Kudvigson HW. Discrimination by rats

AG Gutiérrez-García, CM Contreras.

- of conspecific odors of reward and nonreward. *Science* 1970; 167:904-5.
- 81.- Collerain Y, Ludvigson W. Huddle-jump responding in the rat as a function of conspecific odor of reward and nonreward. *Anim Learn Behav* 1977; 5:177-83.
- 82.- Nyby J, Whitney G. Experience affects behavioral responses to sex odors. En Müller-Schwarze D, Silverstein RM, editores. *Chemical signals*. New York: Plenum Press; 1980. p. 173-192.
- 83.- Todrank J, Heth G, Johnston RE. Social interaction is necessary for discrimination between and memory for odours of close relatives in Golden Hamsters. *Ethology* 1999; 105:771-82.
- 84.- Goldstein NI, Cagen RH. The major histocompatibility complex and olfactory receptors. En Cagen RH, Kare MR, editores. *Biochemistry of Taste and Olfaction*. New York: Academic Press; 1981. p. 93-107.
- 85.- Yamazaki K, Beauchamp GK, Curran M, Bard J, Boyse A. Parent-progeny recognition as a function of MHC odortype identity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:10500-2.
- 86.- Hayashi S, Kimura T. Degree of kinship as a factor regulating preferences among conspecifics in mice. *Anim Behav* 1983; 31:81-5.
- 87.- Penn D, Potts W. How do major histocompatibility complex genes influence odor and mating preferences? *Adv Immunol* 1998; 69:411-36.
- 88.- Brown RJ. Mammalian social odors: A critical review. En Rosenblatt R, Hinde L, Berr I, Busnel M, editores. *Advances in the study of behavior*. New York: Academic Press; 1979. Vol. 10:103-160.
- 89.- Brown RE, Bruce R, Singh PB. The MHC and individual odours in rats. En MacDonald DW, Müller-Schwarze D, Natynczuk SE, editores. *Chemical signals in vertebrates*. Oxford: Oxford University Press; 1990. Vol. 5:228-243.
- 90.- Valenta JG, Rigby MK. Discrimination of the odor of stressed rats. *Science* 1968; 161:599-601.
- 91.- Williams JL, Groulx ML. Exposure to various stressors alters preferences for natural odors in rats (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol* 1993; 107:39-47.
- 92.- Fanselow MS. Odors released by stressed rats produce opioid analgesia in unstressed rats. *Behav Neurosci* 1985; 99:589-92.
- 93.- Moynihan JA, Karp JD, Cohen N, Ader R. Immune deviation following stress odor exposure: role of endogenous opioids. *J Neuroimmunol* 2000; 102:145-53.
- 94.- Moynihan JA, Karp JD, Cohen N, Cocks R. Alterations in interleukin-4 and antibody production following pheromone exposure: role of glucocorticoids. *J Neuroimmunol* 1994; 54:51-8.
- 95.- Cocks R, Thiessen D. Alarm chemosignals suppress the immune system. En MacDonald DW, Müller-Schwarze D, Natynczuk SE, editores. *Chemical signals in vertebrates*. Oxford: Oxford University Press; 1990. Vol. 5:125-131.
- 96.- Cocks R, Moynihan JA, Cohen N, Grotta LJ, Ader R. Exposure to conspecific alarm chemosignals alters immune responses in BALB/c mice. *Brain Behav Immun* 1993; 7:36-46.
- 97.- Ressler RH, Cialdini RB, Ghoca ML, Kleist SM. Alarm Pheromone in the earthworm *Lombicus terrestris*. *Science* 1968; 161:597-9.
- 98.- MacKay-Sim A. Discrimination of odors from stressed rats by non-stressed rats. *Physiol Behav* 1980; 24:699-704.
- 99.- MacKay-Sim A. Rats' responses to blood and body odors of stressed and non-stressed conspecifics. *Physiol Behav* 1981; 27:503-10.
- 100.- Abel EL, Hannigan JH. Effects of chronic forced swimming and exposure to alarm substance: physiological and behavioral consequences. *Physiol Behav* 1992; 52:781-85.
- 101.- Porsolt RD, Pichon ML, Jalfre M. Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature* 1977; 266:730-2.
- 102.- Cervo L, Samanin R. Evidence that dopamine mechanisms in the nucleus accumbens are selectively involved in the effect of desipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology* 1987; 26:1469-72.
- 103.- Danysz W, Plaznik A, Kostowski W, Malatynska E, Järbe TU, Hiltunen AJ, *et al.* Comparison of desipramine, amitriptyline, zimeldine and alaproclate in six animal models used to investigate antidepressant drugs. *Pharmacol Toxicol* 1988; 62:42-50.

APÉNDICE H

Evaluación del acicalamiento en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto en animales sometidos a estrés psicosocial y a choques eléctricos en las patas en una caja de comunicación de dos compartimentos.

Evaluación del acicalamiento en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto en animales sometidos a estrés psicosocial y a choques eléctricos en las patas en una caja de comunicación de dos compartimentos.

Ana G. Gutiérrez-García y Calos M. Contreras

Laboratorio de Neurofarmacología
Instituto de Neuroetología,
Universidad Veracruzana e Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México.

Resumen

El acicalamiento cumple diversas funciones y puede ser provocado bajo distintas circunstancias medio ambientales. Sin embargo, se desconoce si esta conducta se manifiesta de manera diferencial en un modelo de estrés psicosocial. Por tanto, el objetivo del presente análisis consistió en evaluar los cambios en el acicalamiento en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto en ratas macho (cepa Wistar) sometidas a estrés psicosocial inducido en una caja de comunicación de dos compartimentos. En esta caja, una rata recibe choques eléctricos en las patas; mientras que otra es colocada en el compartimento contiguo (grupo testigo-presencial) y sometida sólo a la estimulación olfativa y auditiva emitida por las ratas que reciben choques. En un primer experimento después de 10 min de esta situación experimental, las ratas de ambos grupos fueron evaluadas en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto. En un segundo experimento, los animales colocados en el compartimento seguro (grupo testigo) solo fueron expuestos a los aromas de un animal estresado, sin que existiera otro estímulo sensorial. De esta forma, las ratas inhalaban el aroma durante 10 min en un periodo de 35 días. A los 21 días de haber estado sometidas a esta situación, recibieron imipramina en una dosis de 2.5 mg/Kg y otro grupo 5.0 mg/Kg durante 14 días más. Los resultados mostraron que las ratas que recibieron los choques eléctricos en las patas mostraron un decremento significativo en la latencia ($p < 0.05$) y en el tiempo total de acicalamiento ($p < 0.05$) en una sola sesión de choques o a lo largo de 21 días. La imipramina (5.0 mg/Kg) redujo significativamente el tiempo total de acicalamiento y alargó la aparición de esta conducta. El grupo que presenciaba en una sesión la aplicación de choques eléctricos a su compañero no difirió en estas dos variables a corto o a largo plazo al ser comparado con animales control. Estos resultados sugieren un análisis adicional a la evaluación de la actividad locomotriz, para determinar otras conductas emitidas durante la locomoción que pudieran explicar los resultados previos encontrados bajo estas dos condiciones experimentales.

Palabras clave: autoacicalamiento, estrés psicosocial, choques eléctricos en las patas, dolor, imipramina, olores, feromonas.

Introducción

En un trabajo previo encontramos que aquellas ratas que presencian (grupo testigo-presencial) las reacciones emocionales de un conoespecífico sometido a choques eléctricos en las patas (grupo choques) incrementan de manera significativa su actividad locomotriz comparada con la que despliegan los animales control y aquellos que reciben choques eléctricos en la patas. Al respecto, existen algunos antecedentes que indican que cuando una rata es colocada en áreas saturadas con olores de conoespecíficos que han sido estresados despliegan reacciones de huida o evitación e incremento de la locomoción en general sugerentes de una búsqueda de escape (Zalaquett y Thiessen, 1991). Asimismo, las señales ultrasónicas (20-25 KHz) emitidas por conoespecíficos estresados pueden inducir conductas de dispersión en una colonia de ratas (Miczek et al., 1991). En general, se asume que aquellos animales que son sometidos a olores de animales estresados, despliegan conductas activas de escape más que conductas de congelamiento; mientras que la aplicación de otro tipo de estresores, como los choques eléctricos en las patas genera un miedo condicionado que facilita respuestas de congelamiento (Inoue et al., 1994) y déficits conductuales en pruebas de actividad locomotriz (Van Dijken et al., 1992). Estos datos concuerdan en parte con lo que observamos en nuestro estudio (**ver pág. 37**), el cual nos indicó que los animales que presencian una sesión de castigo a un conoespecífico, incrementan su locomoción; sin embargo, los animales que reciben choques eléctricos en las patas no muestran cambios significativos en su actividad locomotriz al ser comparadas con un grupo control.

Por otro lado, cuando los animales son expuestos de manera prolongada a oler aromas provenientes de animales estresados por choques eléctricos en las patas, su actividad locomotriz se modifica a lo largo del tiempo, es decir, se observa un incremento significativo de la actividad locomotriz a partir de 14 días de exposición a los aromas. La imipramina en dosis de 2.5 mg/Kg restablece la actividad locomotriz a niveles del primer día de exposición a partir de 7 días de iniciado el tratamiento y se mantiene hasta por 14 días. En tanto que, en el grupo choques, la actividad locomotriz decremента de manera significativa a los 7 días de estrés y este decremento se mantiene hasta por 21 días (tiempo de observación). La imipramina en dosis de 2.5 y 5.0 mg/Kg administrada durante 7 y 14 días reduce esta conducta de manera significativa. Asimismo, en el grupo control la actividad locomotriz se ve incrementada de manera significativa a los 7 días, pero regresa a valores control a los 14 y 21 días de su registro. La imipramina a dosis de 2.5 mg/Kg durante 7 y 14 días de administración no tiene ningún efecto sobre la locomoción de estos animales; sin embargo, la dosis de 5.0 mg/Kg reduce de manera significativa la locomoción. Estos cambios en la locomoción sugieren que las condiciones a las que fueron expuestos los tres grupos modifican de manera diferencial la actividad motora.

El término locomotor significa movimiento de un sitio a otro. En roedores la locomoción constituye un componente importante de la exploración espacial y puede verse influenciada por factores como la motivación y el estrés (Kelley, 1993). El método observacional más comúnmente empleado para el registro de la actividad motora general son las pruebas en campo abierto. Una prueba en campo abierto típica emplea una arena lo

suficientemente grande como para que el animal se desplace alrededor de ella (aproximadamente 1m x 1m). Esta área se encuentra dividida en una unidad periférica y central, y la locomoción (número de cruces) y el rearing (conducta vertical) pueden ser registradas en estas áreas. El registro de la actividad en áreas centrales o periféricas aporta información acerca de la distribución espacial del comportamiento desplegado por los animales durante un registro de 10 a 20 min. El acicalamiento y otras conductas como los movimientos estereotipados, la alimentación y el contacto con objetos, pueden ser también evaluados (Kelley, 1993).

De manera particular, se ha propuesto que el acicalamiento parece modificarse en animales ansiosos y en situaciones de estrés agudo (Moyaho y Valencia 2002), un efecto que es revertido a valores control por el tratamiento con fármacos ansiolíticos y antidepresivos (Hata et al., 1988; D'Alquila et al., 2000). Sin embargo, el estrés prolongado reduce el acicalamiento por debajo de los valores control (Van Dikjjen, et al., 1922). Por tanto, el objetivo del presente análisis consistió en evaluar la conducta de acicalamiento durante el registro de la actividad locomotriz en campo abierto en animales que fueron sometidos a choques eléctricos en las patas y a estrés psicosocial inducido en una caja de comunicación de dos compartimentos en una sola sesión (estrés agudo). Asimismo, se evaluó el acicalamiento a largo plazo (estrés crónico) en animales expuestos a olores de animales estresados y en los animales sometidos a choques eléctricos en las patas.

Material y método

Animales

Se utilizaron 97 ratas albinas macho de la cepa Wistar, de tres meses de edad, con un peso entre los 300 y 350 g al inicio de los experimentos. Las ratas se mantuvieron en un bioterio de estancia en cajas de acrílico translúcidas (45 x 30 x 30 cm) en grupos de 8 animales por caja, con ciclo de luz/oscuridad de 12 x 12 hrs (la luz se encendió a las 7:00 a.m.) y con libre acceso al agua y alimento. Los animales fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los grupos experimentales y fueron manipulados diariamente una semana previa al experimento.

Grupos experimentales y tratamientos

Las ratas fueron asignadas a tres grupos independientes. El grupo control fue constituido por animales intactos que fueron sometidos a la prueba de actividad locomotriz. Otro grupo fue denominado choques y un tercer grupo testigo-presencial. Los animales de estos dos últimos grupos fueron sometidos a una caja de dos compartimentos (30.0 x 25.0 cm de base y 30.0 cm de altura), con el piso electrificado compuesto por barras de acero inoxidable de diámetro de 0.5 cm y 1.3 cm entre una y otra barra. Los compartimentos (15.0 cm x 12.5 de base y 30.0 cm de altura) estuvieron divididos a la mitad por una placa de vidrio opaca de 0.2 cm de espesor de tal forma que los animales no pudieron tener contacto visual. Por tanto, el rango de distancia entre una rata y otra, debido a la partición, fue de 0.2 a 10.0 cm dependiendo de la posición de la rata dentro de la caja. Se colocó

una placa de plástico sobre el piso de uno de los dos compartimentos para prevenir que los animales recibieran choques eléctricos en las patas (compartimento seguro); mientras que en el compartimento contiguo, el piso contenía barras electrificadas las cuales a través de un generador de pulsos eléctricos (Grass Instruments S44, Quincy, Mass, USA.) emitieron choques eléctricos en las patas ((1 mA, 0.5-s duración, 0.5 c/s CD).

Estrés agudo

Por pares cada una de las ratas fue colocada en uno de dos compartimentos. Después de un periodo de 5 min de habituación (pre-prueba), una de cada par de ratas recibió 40 choques por minuto (1mA, 0.5 s: grupo choques) durante 10 minutos. La otra rata, permaneció en el compartimento contiguo sin recibir choques, pero expuesta a la estimulación auditiva y olfativa proveniente de la rata del grupo choques (grupo testigo-presencial). El grupo control fue colocado en el compartimento seguro de la caja de dos compartimentos, pero sin que existiera estímulo sensorial alguno. El grupo choques fue sometido a la prueba de actividad locomotriz en campo abierto después de que recibió durante 10 minutos choques eléctricos inescapables en las patas, en tanto que el grupo testigo se sometió después de haber presenciado durante los mismos 10 minutos la aplicación de choques eléctricos a la rata del compartimento contiguo.

Estrés crónico

Se formaron otros seis grupos, tres de ellos recibieron una dosis de 2.5 mg/Kg de imipramina (IMI) durante 14 días después de 21 días de prueba conductual; mientras que los tres grupos restantes recibieron el mismo régimen, pero con otra dosis del tricíclico (5.0 mg/kg). Veinticuatro horas después de una sesión de 5 min de habituación, cada una de las ratas que integraron el grupo choques (n=8, para el grupo choques 2.5 mg/Kg y n=8, para el grupo choques 5.0 mg/Kg IMI) fueron colocadas en el compartimento electrificado de la caja para recibir durante 10 minutos, 40 choques por minuto (1mA corriente directa, 0.5 s), diariamente durante 35 días. Pasados los 10 minutos de estimulación eléctrica, cada rata fue retirada y devuelta al bioterio de estancia. Posteriormente, cada una de las ratas del grupo testigo (n=8 para el grupo testigo 2.5 mg/Kg IMI y n=8 para el grupo testigo 5.0 mg/Kg), fueron colocadas durante 10 minutos en el compartimento seguro de la caja de comunicación de dos compartimentos. En la parte basal de compartimento seguro, se colocó la orina de una rata que previamente había recibido choques eléctricos en las patas. De tal forma, que las ratas testigo-presenciales, no recibieron choques, pero fueron expuestas a la estimulación olfativa emanada por la rata del grupo choques, en un periodo de 35 días. Así, el grupo testigo solo recibió el estímulo olfativo y se evitó la estimulación auditiva proveniente de la rata que recibió choques. El grupo control (n=9, para el grupo control 2.5 mg/Kg y n=8 para el grupo control 5.0 mg/Kg), sólo fue colocado en el compartimento seguro de la caja de comunicación durante los mismos 35 días sin ser expuesto a estimulación sensorial alguna. Cada una de las ratas de los grupos antes mencionados fue sometida a la prueba de actividad locomotriz los días 1, 7, 14, 21. Después de la sesión 21,

todos los animales recibieron una inyección diaria de imipramina (2.5 mg/Kg o 5.0 mg/Kg, i.p.) y fueron nuevamente evaluados en la prueba de actividad locomotriz los días 28 y 35 de tratamiento (7 y 14 días después de iniciado el tratamiento farmacológico).

Pruebas conductuales

Actividad locomotriz en campo abierto

Las ratas fueron depositadas individualmente en una de las esquinas de una caja de acrílico (44 x 33 cm) con paredes de 20 cm de altura y con el piso dividido en 12 cuadros de 11 x 11 cm. Se llevó a cabo una preprueba de 5 min, sin valor estadístico dado que su única finalidad fue la de habituar al animal a la caja de prueba. Veinticuatro horas después, se realizó el registro de prueba. La duración de la prueba fue de 5 min y se evaluó la latencia al acicalamiento definida como el tiempo en segundos que transcurrió una vez colocada la rata en la caja de prueba hasta que emitió el primer acicalamiento y el tiempo total de acicalamiento. Se consideró como acicalamiento cualquier conducta autodirigida de aseo que incluyera el lamido de las patas anteriores y la emisión de giros elípticos amplios de las patas anteriores sobre las orejas, la cabeza, el cuerpo y la cola; así como cualquier movimiento elíptico de amplitud pequeña limitada a las vibrisas de forma unilateral o bilateral (Berridge, 1989). Después de cada prueba por rata, la caja fue limpiada cuidadosamente con una solución conteniendo amoníaco 0.5%, etanol 15%, extran 10%, isopropanol 5%, pinol 19% y agua 59.5%.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos durante el estrés agudo fueron analizados por medio de un ANOVA de una vía para grupos independientes y para indicar las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y el grupo control se utilizó la prueba *post-hoc* de Dunnett. El criterio de significancia sólo incluyó diferencias de $p \leq 0.05$. Para los datos obtenidos en el estrés crónico se empleó un ANOVA de dos vías considerando como primer factor la manipulación experimental, es decir, al grupo al que pertenecían los animales: control, testigo o choques; y como segundo factor, se consideró el tratamiento farmacológico con IMI (2.5 mg/Kg y 5.0 mg/Kg). Cuando se encontraron significancias de $p \leq 0.05$ se hicieron comparaciones múltiples pareadas utilizando la prueba de Student-Newman-Keuls.

Resultados

Estrés agudo

El análisis de varianza de la latencia al acicalamiento (figura 1A) mostró diferencias significativas entre los grupos [$F:2,45=4.84$, $p < 0.01$]. La prueba *post-hoc* de Dunnett indicó que en el grupo choques la latencia al acicalamiento se acortó de manera significativa al compararse con el grupo control ($p < 0.05$); en la figura 1B, se muestra el tiempo total de acicalamiento. Obsérvese que el grupo choques desplegó el mayor tiempo total de

acicalamiento [F:2,45=8.87, $p<0.0006$] al ser comparado con el grupo control ($p<0.05$) y que el grupo testigo se mantiene con valores semejantes al control.

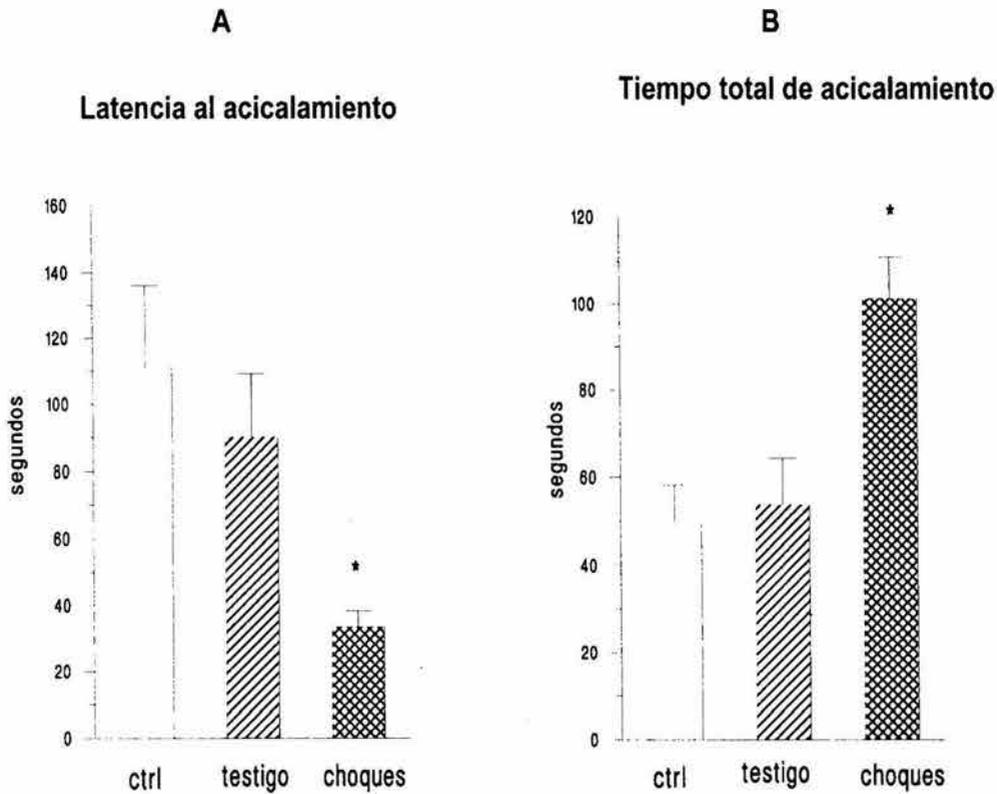


Figura 1. Prueba de actividad locomotriz: acicalamiento. A) La latencia al acicalamiento se acortó de manera significativa en el grupo que recibió choques eléctricos en las patas en una sola sesión de 10 min. B) Así mismo, el grupo choques desplegó el mayor tiempo total de acicalamiento después de 10 min de ser sometido a esta condición. Cada barra representa el promedio de 16 animales \pm el error estándar. * $p<0.05$ vs grupo control, prueba *post-hoc* Dunnett.

Estrés crónico

Latencia al acicalamiento

El análisis de varianza de dos vías indicó diferencias significativas entre los grupos. El factor manipulación experimental resultó significativo [F:2,285=48.58, $p<0.0001$]. Así los animales que integraron el grupo choques mostraron un acortamiento significativo de la latencia al acicalamiento ($n=16$, $p<0.05$) al ser

comparados contra el grupo control (n=17) y grupo testigo-presencial (n=16), independientemente del tratamiento farmacológico con imipramina. Por otro lado, el factor tratamiento farmacológico también ilustró diferencias significativas [F:2,245=13.66, p<0.0001]. Solo la dosis más alta de imipramina (5.0 mg/Kg) alargó significativamente el acicalamiento en los tres grupos independientemente de la maniobra conductual. La interacción de factores no fue significativa [F:4,285=0.839, p<0.501, NS]. Los datos globales indicaron que en el grupo choques la latencia al acicalamiento se acortó de manera significativa y la imipramina en una dosis de 5.0 mg/Kg revirtió este efecto (ver figura 2A).

Tiempo total de acicalamiento

El análisis de varianza de dos vías indicó diferencias significativas entre los grupos. El factor manipulación experimental provocó cambios significativos [F:2,285=76.17, p<0.0001]. Así, los animales que integraron el grupo choques mostraron un incremento significativo en el tiempo total de acicalamiento (n=16, p<0.05) al ser comparados contra el grupo control (n=17) y grupo testigo-presencial (n=16), independientemente del tratamiento farmacológico con imipramina. Por otro lado, el análisis del factor tratamiento farmacológico también ilustró diferencias significativas [F:2,245=36.71, p<0.0001]. Solo la dosis más alta de imipramina (5.0 mg/Kg) redujo significativamente el acicalamiento en los tres grupos independientemente de la maniobra conductual. La interacción de factores no fue significativa [F:4,285=1.84, p<0.121]. Los datos globales indicaron que el grupo choques desplegó un mayor tiempo total de acicalamiento y la imipramina revirtió dicha conducta a valores control (ver figura 2B).

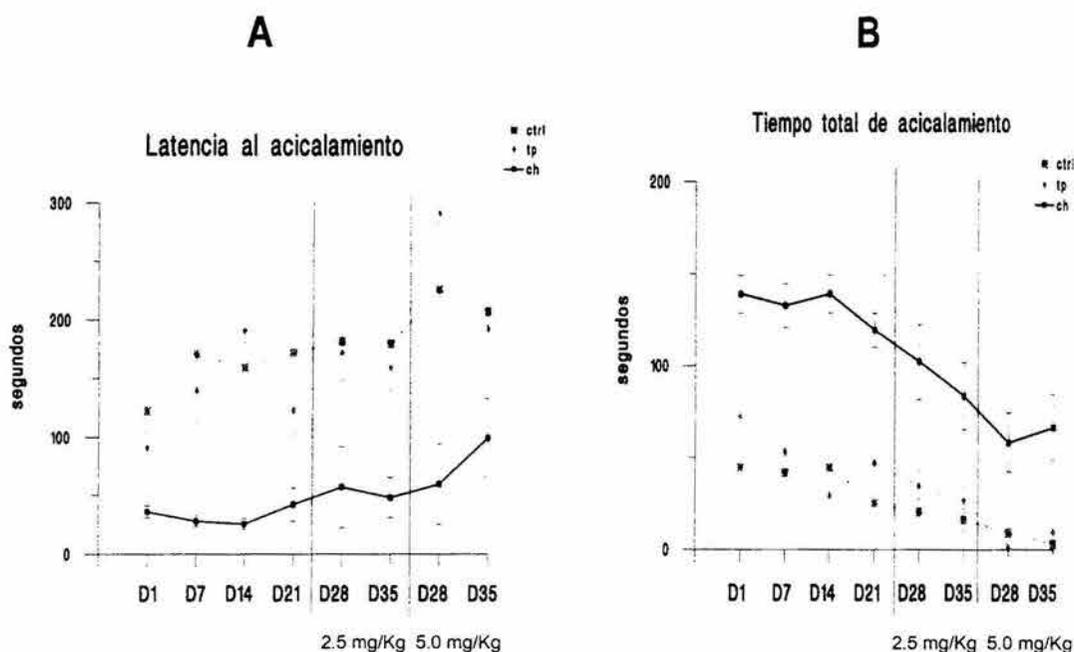


Figura 2. Prueba de actividad locomotriz: evaluación del acicalamiento a lo largo del tiempo (abscisa, en semanas). a) La latencia al acicalamiento se acortó de manera significativa en el grupo que recibió choques eléctricos en las patas, mientras que el grupo testigo-presencial y control no difirieron a lo largo del tiempo en la latencia al acicalamiento; sin embargo, en los tres grupos experimentales la imipramina alargó de manera significativa dicha conducta con la dosis de 5.0 mg/Kg. B) El grupo choques desplegó el mayor tiempo total de acicalamiento y la imipramina en dosis de 2.5 y 5.0 mg/Kg redujo esta conducta de manera significativa. Nuevamente, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo testigo-presencial. Cada punto representa el promedio de 16-17 animales \pm el error estándar. Abrev.: Ctrl (grupo control); Tp (grupo testigo); Ch (grupo choques).

Discusión

De este análisis concluimos que las ratas del grupo choques son las que desplegaron un mayor tiempo total de acicalamiento tanto en una sola exposición a choques eléctricos en las patas (10 min), como a largo plazo durante 7,14 y 21 días de aplicación, y que la dosis más alta de imipramina (5.0 mg/Kg) redujo significativamente esta conducta desde el séptimo día de administración. Sin embargo, en el grupo testigo y control, no se observaron diferencias significativas entre los grupos en una sola sesión o a largo plazo; la imipramina (5.0 mg/Kg) redujo significativamente el tiempo total del acicalamiento. Por tanto, es necesario realizar un análisis minucioso de la actividad locomotriz de los tres grupos experimentales para definir que otra conducta se modifica en los animales testigo-presenciales durante la prueba en campo abierto, que pudiera explicar el antecedente previo del incremento de la locomoción. Sin embargo, existen algunos antecedentes de otros grupos de investigadores donde se han realizado análisis exhaustivos de diversos comportamientos desplegados durante el registro de la actividad locomotriz bajo diferentes condiciones.

Las conductas generalmente evaluadas incluyen la locomoción (número de cuadros cruzados), el "rearing" (conducta vertical), el husmeo, la inmovilidad y el autoacicalamiento a través de programas computarizados para calcular la duración total de estos parámetros conductuales. van Dijken y colaboradores (1992) reportaron que a los 7 y 14 días después de la exposición a choques eléctricos en las patas, los animales muestran un decremento significativo de la locomoción, de la conducta vertical, del husmeo y del autoacicalamiento. En cuanto a este último parámetro conductual, nuestros resultados resultan ser opuestos, dado que encontramos un incremento significativo de esta conducta tanto en una sola sesión como a largo plazo. Las diferencias encontradas pueden estar determinadas en parte por la metodología empleada, dado que estos investigadores utilizaron una arena en campo abierto con dimensiones de 1.0 m para evaluar dichas conductas. Además, ellos emplearon una caja de plexiglas de 32x32x44 cm para aplicar los choques eléctricos en las patas (1 mA, 6s duración, intervalo 90s, en un rango de 24-244 s) y expusieron a sus animales a 15 min de choques. Además, no compararon sus datos con otras condiciones de estrés.

El incremento del acicalamiento en nuestros animales del grupo choques, podría responder a una autoadministración de estimulación de la piel ante el dolor inducido por los choques eléctricos en las patas. A nivel clínico, existen algunas evidencias que sugieren que la estimulación vibratoria, el rozamiento, la presión o el refrescamiento de un área de la piel con dolor, tiene efecto analgésico (Rosenzweig y Leiman, 1992). Asumiendo alguna implicación etológica, esto explicaría por qué cuando se recibe un golpe con algún objeto o nos lesionamos accidentalmente, se tiende a emitir movimientos vigorosos de frotamiento en la zona lesionada para aliviar el dolor. Spitznagel y colaboradores (2001), demostraron que la administración intraventricular de sustancia P (25, 100 y 500 pmol) en ratas induce un excesivo autoacicalamiento (lavado intenso de la cara y de las extremidades anteriores) y un incremento en la expresión de la proteína c-Fos en el núcleo paraventricular, dorsomedial, parabraquial y en el tálamo medial. Asimismo, se ha determinado que los choques eléctricos inducen un incremento significativo de los niveles plasmáticos de corticosterona. La administración de corticosterona a nivel intracerebroventricular (1 µg) induce un incremento excesivo del autoacicalamiento (Dunn et al., 1980). Estas respuestas son consistentes con las respuestas fisiológicas y neuroendocrinas inducidas en ratas ante estímulos nocivos y dolorosos. Varios estudios han demostrado cambios en los niveles de sustancia P y de sus receptores en varias regiones cerebrales relacionadas con el estrés agudo. Estos datos indican que la sustancia P y otras taquicininas, no solo intervienen en las vías de transmisión del dolor a nivel de la médula espinal, sino que a nivel del encéfalo intervienen como neurotransmisores y neuromoduladores actuando como mediadores de circuitos relacionados con las respuestas al estrés (Bressers et al., 1995; Culman et al., 1995).

Sin embargo, se ha determinado que el acicalamiento evaluado en una prueba en campo abierto pueden diferir dependiendo del estresor empleado y los fármacos antidepresivos pueden tener efectos opuestos sobre esta conducta. Por ejemplo, el estrés por restricción de espacio incrementa significativamente el acicalamiento y la desipramina revierte este efecto pero decrementa la actividad exploratoria, en tanto que este

tríciclo administrado en animales sometidos a estrés ligero incrementa significativamente el acicalamiento de los animales (D'Alquila et al., 2000). Estos hallazgos sugieren que el acicalamiento parece tener un carácter plurifuncional que puede ser provocado bajo distintas circunstancias ambientales y el efecto farmacológico de los antidepresivos parece ejercer un efecto opuesto a las modificaciones conductuales inducidas por el estrés, es decir, una acción protectora.

Por otro lado, Pijlman y van Ree (2002) sugieren que el estrés físico y el estrés emocional pueden tener efectos opuestos a largo plazo sobre el comportamiento de los animales en pruebas en campo abierto. El estrés físico producido por choques eléctricos en las patas, en general promueve a largo plazo un decremento significativo de la actividad locomotriz mientras que el estrés emocional generado en ratas testigos del estrés físico inducido a conoespecíficos, incrementa la actividad locomotriz. Estos cambios en campo abierto pueden ser el resultado de varios factores como incremento de la ansiedad, un cambio en la estrategia para afrontar el estrés o simplemente un cambio en la actividad locomotriz. Estos autores sugieren que los choques eléctricos en las patas promueven más comportamientos pasivos de enfrentamiento; mientras que el estrés emocional incrementa significativamente la actividad locomotriz *per se* (Pijlman et al., 2002). Estos hallazgos y las observaciones realizadas en nuestro estudio son consistentes, pareciera entonces, que los estresores físicos y emocionales son fundamentalmente diferentes. Sin embargo, las bases que sustentan estas observaciones aún no son del todo conocidas. La investigación clásica sobre la formación de úlceras en monos ejecutivos realizada por Brady (1958, ref. en Rosenzweig y Leiman, 1992) hace más de 50 años demuestran que las diversas condiciones estresantes a las que son sometidas diferentes especies de animales pueden tener un significado biológico diferente. El valor adaptativo y de sobrevivencia de los individuos y de las especies podría explicar las diversas estrategias emitidas durante diferentes tipos de estresores.

Dennis y Melzack (1983) señalan que ciertos aspectos de la expresión del dolor parecen servir como señal social para otros animales. Consideran que esta expresión es probablemente significativa para la sobrevivencia de la especie y de los individuos. El chillido señala el daño potencial a otros miembros cercanos de la misma especie; además, puede dar lugar a conductas de cuidado de los conoespecíficos, tales como acicalamiento, defensa y alimentación, que aumentan la posibilidad de sobrevivencia de la víctima. En este sentido, no sólo trabajos realizados sobre las vocalizaciones emitidas durante estímulos nocivos han sugerido el papel que la expresión del dolor pudiera tener sobre la sobrevivencia del individuo y de la especie. Los trabajos de Zalaquett y Thiessen (1991) demuestran que los aromas emanados de animales que reciben choques eléctricos en las patas promueven el incremento de la vigilancia en conoespecíficos expuestos a dichos olores. Estos investigadores realizaron un análisis minucioso de los diferentes comportamientos emitidos en una prueba en campo abierto. Ellos demuestran que los animales expuestos a áreas saturadas de olores de ratones estresados por choques eléctricos en las patas, produce un incremento significativo de la locomoción en general,

escalamiento hacia las paredes de la caja de prueba, conducta vertical, autoacicalamiento y husmeo hacia el origen del olor.

En nuestro estudio, encontramos que la actividad locomotriz *per se* incrementa de manera significativa en los animales testigo presenciales; sin embargo, el acicalamiento no difirió al emitido por animales control. Es probable que las diferencias encontradas en la evaluación de esta conducta se deban a la metodología empleada. Zalaquett y Thiessen (1991), realizaron varios experimentos utilizando diferentes dispositivos para hacer llegar el olor de animales estresados a otros ratones. Incluso, en un primer experimento utilizando una caja tubular, donde el movimiento de los animales fue más restringido, encontraron un incremento significativo de la locomoción y respuestas de escape de las áreas donde se originaba el olor del animal estresado, pero no encontraron incremento del acicalamiento; mientras que en un segundo experimento, utilizando una caja hogar mucho más amplia y compleja, observaron que los comportamientos desplegados por ratones expuestos a olores de animales estresados son más complejos. Asimismo, Kikisui y colaboradores (2001) observaron que un grupo de animales control y un grupo de animales expuestos a olores de animales estresados por choques eléctricos en las patas no difieren en el acicalamiento y en la conducta vertical, pero si difieren en la locomoción y en el husmeo y, que los aromas de animales estresados promueven hipertermia e incremento de la expresión de la proteína c-fos en células mitrales del núcleo olfatorio accesorio e incremento de la locomoción.

En conclusión, los datos encontrados en el análisis del acicalamiento parecen ser controversiales a lo hallado por otros investigadores y resulta atractivo investigar las diferencias encontradas en la prueba de actividad locomotriz en campo abierto empleando dos tipos de estresores, el estrés físico consistente en choques eléctricos en las patas y el estrés psicosocial, consistente en presenciar las reacciones emocionales de conespecíficos estresados y en inhalar los aromas provenientes de animales estresados. Se sugiere el análisis de los comportamientos emitidos durante la actividad locomotriz para determinar el efecto de ambos estresores sobre esta variable, lo cual amerita otro diseño experimental. Para los objetivos de la presente investigación, los resultados generales encontrados sobre la actividad locomotriz indican ser consistentes con otras observaciones realizadas por diversos investigadores en donde se ha determinado que la exposición a olores de animales estresados o el presenciar el dolor de un conespecífico, promueve el incremento de la actividad locomotriz, pero que en el animal que recibe los choques ocurre un decremento de la locomoción aunado a un incremento del acicalamiento, conducta autodirigida, la cual es disminuida por la imipramina.

Bibliografia

- Berridge KC (1989). Progressive degradation of serial grooming chains by descending decerebration. *Behav Brain Res* 33:241-253.
- Bressers WM, Kruk MR, Van Erp AM, Willekens-Bramer DC, Haccou P, Meelis E (1995). Time structure of self-grooming in the rat: self-facilitation and effects of hypothalamic stimulation and neuropeptides. *Behav Neurosci* 109(5):955-64.
- Culman J, Unger T (1995). Central tachykinins: mediators of defense reaction and stress reactions. *Can J Physiol Pharmacol* 73(7):885.
- D'Aquila PS, Paena AT, Carboni V, Serra G (2000). Exploratory behaviour and grooming after repeated restraint and chronic mild stress: effect of desipramine. *Eur J Pharmacol*, 300(1):43-47.
- Dennis SG, Melzack R (1983). Perspectives on phylogenetic evolution of pain expression. In Kitchell RL, Erickson HH, Carstens E, Daavis LE (Eds). *Animal pain*. Bathesda: American Physiological Society, pp- 151-161.
- Dunn AJ, Steelman S, Delanoy R (1980). Intraventricular ACTH and vasopressin cause regionally specific changes in cerebral deoxyglucose uptake. *J Neurosci Res* 5(6):485-95.
- Hata T, Nishimura Y, Kita T, Itoh E, Kawabata A (1988). The abnormal open-field behavior of stress-stressed rats and effects of some drugs on it. *Jpn J Pharmacol* 48(4):479-490.
- Inoue T, Tsuchiya K, Koyama T (1994). Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and psychological stress in the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* 49(4):911-920.
- Kelley AE. (1993). Locomotor activity and exploration. En Sahgal A (Ed). *Behavioural neuroscience. A practical approach II*. Oxford: Irl Press, pp. 1-21.
- Kikusui T, Takigami S, Takeuchi Y, Mori Y (2001). Alarm pheromone enhances stress-induced hyperthermia in rats. *Physiol Behav* 72(45-50).
- Moyaho A, Valencia J (2002). Grooming and yawning trace adjustment to unfamiliar environments in laboratory Sprague-Dawley rats (*rattus norvegicus*). *J comp Psychol*, 116(3):263-269.
- Pijlman FT, van Ree JM (2002). Physical but not emotional stress induces a delay in behavioural coping responses in rats *Behav Brain Res* 136(2):365-73.
- Rosenzweig MR, Leiman AL (1992). *Psicología fisiológica*. Madrid: McGraw Hill, pp. 301-315.
- Spitznagel H, Baulmann J, Blume A, Unger T, Culman J (2001). C-FOS expression in the rat brain in response to substance P and neurokinin B. *Brain Res* 916(1-2):11-21.
- Van Dijken HH, Van der Heyden JA, Mos J, Tilders FJ (1992). Inescapable footshocks induce progressive and long-lasting behavioural changes in male rats. *Physiol Behav*, 51:787-794.
- Zalaquett C, Thiessen D (1991). The effects of odours from stressed mice on conspecific behavior. *Physiol Behav* 50:221-227.