



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA
Laboratorio de psicofarmacología



INFLUENCIA DEL CICLO ESTRAL EN LA MEMORIA Y ANSIEDAD EN RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS POR RESTRICCIÓN EN EL LABERINTO E L E V A D O E N “ T ”



TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
ERNESTO ALBERTO RENDON OCHOA



DIRECTORA DE TESIS: DRA. SARA EUGENIA CRÚZ MORALES

MÉXICO D.F. 24 DE ENERO DE 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

INFLUENCIA DEL CICLO ESTRAL EN LA MEMORIA Y
ANSIEDAD EN RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS POR
RESTRICCIÓN EN EL LABERINTO ELEVADO EN “T”.

Ernesto Alberto Rendón Ochoa

Directora de Tesis: Dra. Sara Eugenia Cruz Morales

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores
Iztacala (FES-I).

Av. De los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México,
C.P. 54090, México.

Laboratorio de Psicofarmacología. UNAM.

Se agradece la beca otorgada por el proyecto PAPIIT IN300806 DGAPA.
UNAM.

*SIEMPRE HE CONSIDERADO LA BÚSQUEDA DE
LO ABSOLUTO COMO LA META MÁS ELEVADA
DE TODA LA ACTIVIDAD CIENTÍFICA*

MAX PLANCK

Todos somos científicos cuando somos niños, pero al crecer,
solo algunos conservan un poco de esa curiosidad que es la madre de la ciencia

Juan Aguilar M.

Algunos monos ven en el darwinismo una calumnia

Valeriu Butulescu

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sara Cruz, ya que gracias a su apoyo, sabiduría, dedicación y extrema paciencia fue posible este trabajo y más que nada todo lo que me ha enseñado durante estos años. No hubo mejor manera de ganar mi eterno respeto que con su conocimiento, su integridad y su forma de hacer las cosas.

A la Dra. Mary, que me ayudó y asesoró durante todo el proceso de la tesis e incluso de mi vida, con sus consejos y su desinteresada guía. No tengo como agradecerle.

Al M. en C. Ricardo Gersenowies que me mostró el camino de la neurociencia y creó un vacío que sólo podría llenar el conocimiento, además que me mostró el valor y la trascendencia de lo que pueden llegar a ser los errores.

A la Dra. Norma, la cual llegó a ser una respetable amiga y compañera gracias a su invaluable apoyo durante toda la tesis.

Al Dr. Barral, el cual me mostró el otro lado de la neurociencia. Sus consejos y análisis no eran menos que necesarios para una verdadera visión de las neurociencias.

Al M. en C. Alfonso, que me mostró que una persona puede dominar tantos aspectos de la vida como él mismo se delimite.

A mi padre, el cual por su amor, tanto a la ciencia como a mi persona me ayudaron a crear este camino y seguir durante toda mi vida el sendero el cual él dibujó con tanta pasión: la biología.

A mi madre, por darme tanto cariño y apoyo durante toda mi vida, por ser la persona que siempre estuvo allí para ayudarme. A ella, ya que no sería nada en este mundo si no hubiese estado.

A mi hermano, ya que con su visión y la mía siempre se creaba algo bueno. A él, por que me enseñó el valor de la paciencia, de la mente calmada y en general, de la sabiduría del hermano mayor.

A mi familia, ya que siempre estuvieron cuando tuve problemas. A mis tíos, que son como hermanos mayores. A mis tías, que son las que trazaron el camino de todos nosotros. A mis abuelos, que su ausencia, que es casi infinita, nunca fue ni será mayor que el cariño que nos tenían. Su casa, era solo una extensión de nuestro hogar.

A mis amigos. Oscar, a él porque no podría tener suficiente memoria de todo lo que hizo para apoyarme en mi vida. Ramiro e Iván, a ellos que me mostraron la importancia de las humanidades, de la risa, de la música en la vida. A Abraham, con el cual compartí risas, mareos y sobre todo, la electrónica. A Adrián, que su perversa inocencia siempre quedará en mi memoria. A Mariana, a ella que fue la protagonista de una linda utopía y una gran amiga.

A mis compañeros de la carrera, Mara, Carlos, Daniel, Marcela, Fátima, Cesar, Sandra, Chío, Elsa, Edith, Adlemy, Alfonso, Ricardo, Adolfo, José Luis, Itzel, Liz, Dalia,

Fernanda y a todos los que me faltaron en esta escaramuza, pero que nunca faltarán en mi memoria y en mi cariño.

A Claudia, ya que sin su cariño, sin su paciencia e incluso sin su guía, nunca hubiese podido ver más allá, sentirme capaz de tantas cosas, conocerme a un nivel nunca imaginado y sentirme capaz de querer nuevamente. A ella, que son todas las personas, en una sola persona.

A Miguel, el pionero de ese camino que todos conocemos, y aún así, nadie ha conocido, ese que se conoce sólo una vez.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.- ESTRÉS. LA RESPUESTA HOMEOSTÁTICA ANTE LOS DIFERENTES ESTÍMULOS ESTRESANTES.

1.1. – Bases biológicas del estrés.....	3
1.2. – Los glucocorticoides como efectores finales del estrés.....	5
1.3. – Diferenciación de los estímulos estresores.....	7
1.4. – La dopamina y su relación con el estrés.....	9

2.- ANSIEDAD. EL PRINCIPAL REFLEJO DE UNA HOMEOSTASIS ALTERADA.

2.1. – Bases biológicas de la ansiedad.....	11
2.2. – El estriado y su relación con la ansiedad.....	13
2.3. – La dopamina y su relación con la ansiedad.....	14

3.- MEMORIA. LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS DE LA INFORMACIÓN Y SU RESPUESTA ANTE EL ESTRÉS.

3.1. – Bases biológicas de la memoria.....	16
3.2. – Estructuras cerebrales implicadas en la formación de la memoria.....	17
3.3. – La dopamina en la formación de memoria.....	18
3.4. – Memoria y estrés: Relación y efectos sobre el organismo.....	19
3.4.1. – La dopamina y su relación con la memoria y el estrés.....	22

4.- EL CICLO ESTRAL. LAS DIFERENCIAS SEXUALES ANTE LAS FUNCIONES COGNITIVAS Y EL ESTRÉS.

4.1. – Bases biológicas del ciclo estral.....	23
4.2. – Relación entre el ciclo estral y el estrés.....	24
4.3. – Relación entre el ciclo estral y la memoria.....	25
4.4. – Relación entre el ciclo estral y la ansiedad.....	27

OBJETIVOS..... 31

MÉTODOS..... 32

RESULTADOS

EXPERIMENTO 1: Efecto de la restricción sobre la concentración de DA, DOPAC y la ADA en el estriado dorsal a través del ciclo estral

Resultados	36
------------------	----

Discusión.....	40
----------------	----

EXPERIMENTO 2: Efecto del entrenamiento en el laberinto elevado en T (LET) en la concentración de DA en el estriado dorsal derecho (EDD) y en la ejecución en el LET.

Resultados 42

Discusión..... 47

EXPERIMENTO 3. Efecto de la restricción sobre la memoria y ansiedad de ratas hembras sometidas a 3 hrs de estrés por restricción.

Resultados 49

Discusión..... 55

CONCLUSIONES..... 58

BIBLIOGRAFÍA..... 59

1. ESTRÉS. La respuesta homeostática ante los diferentes estímulos estresantes.

1.1 – BASES BIOLÓGICAS DEL ESTRÉS

Amplia evidencia en estudios con animales ha identificado que el estrés afecta diferentes funciones tales como la memoria (Beiko, *et al.*, 2004; Bowman, *et al.*, 2001; Conrad, *et al.*, 2003; Conrad, *et al.*, 2004; Kim y Diamond, 2002; Korol, *et al.*, 2004; Woodson, *et al.*, 2003;) y la ansiedad (Clement y Chapouthier, 1998; Fernández-Guasti y Picazo, 1992; Frye, *et al.*, 2000; Kandel, *et al.*, 2001; Kim y Yoon, 1998; Marcondes, *et al.*, 2001). De igual manera se ha identificado que el ciclo estral puede influenciar en cierta manera las respuestas del organismo a el estrés. El estrés es generalmente definido como un estado de homeostasis alterada resultado de un reto externo o interno, o de un estresor (Seyle, 1956), sin embargo, para el completo entendimiento del concepto de estrés y las repercusiones que tiene éste sobre los mecanismos fisiológicos de un organismo, es necesario una introducción sobre los mecanismos fisiológicos del estrés, los mecanismos fisiológicos de la memoria y ansiedad, así como del ciclo estral sobre la respuesta del estrés.

Los procesos del estrés incluyen siempre los siguientes elementos (Seyle, 1956):

1. El estresor
2. Un proceso de evaluación cognitiva
3. Las estrategias de afrontamiento
4. La reacción del estrés

Los estresores son estímulos internos o externos que de manera directa o indirecta propician la desestabilización del equilibrio dinámico del cuerpo (Seyle, 1956). La respuesta adaptativa o reacción al estrés depende de la cualidad (física o emocional), fuerza y duración (agudo o crónico) del estímulo (Sandy, *et al.*, 2001), de igual manera, los estresores actúan de manera diferencial debido al estado mental en el que se encuentra el organismo. Debido al proceso de evaluación cognoscitiva al que es sometido todo estímulo

estresor, los efectos que ejerce sobre el organismo dependen, además del estresor *per se*, de factores psicológicos que modulan las respuestas del estrés; dichos factores incluyen el control y la predictibilidad que el organismo tiene sobre el estresor y la existencia de otras actividades que sirven para evitar la frustración producto del estímulo estresor y, análogamente, para reducir los efectos del estrés; todo eso, en conjunto, constituye la experiencia individual al estrés (Gómez y Escobar, 2002).

Una vez dado el estresor, diversas estructuras y regiones del sistema nervioso central y periférico participan en la respuesta del estrés, algunas son “puertas de entrada” de la información, otras son “centros evaluadores del estímulo estresor y finalmente las “puertas de salida” (McEwen, 2000). Las respuestas fisiológicas del estrés están determinada por el sistema nervioso central y la coordinación que éste ejerce sobre los 3 sistemas corporales encargados de mantener la homeostasis: el sistema nervioso autónomo, endocrino e inmune.

El sistema nervioso autónomo es el encargado de regular las funciones viscerales del organismo necesarias cuando se presenta el estímulo estresor. Al ocurrir este estímulo, las neuronas preganglionares reciben la información del hipotálamo a través de las vías autónomas descendentes que provienen desde el núcleo paraventricular del hipotálamo o del núcleo del tracto solitario en el tronco cerebral, y la transmiten hasta la cadena ganglionar simpática paravertebral. Al activarse la división simpática se da una liberación de hormonas, por las glándulas suprarrenales, que secretan adrenalina en la región medular y glucocorticoides en la cortical (Gómez y Escobar, 2002). Participan también en la respuesta endocrina al estrés la prolactina, el glucagón, la arginina vasopresina, la somatostatina, las endorfinas y encefalinas, la oxitocina, la colecistoquinina, la galanina, el péptido vasoactivo intestinal, la angiotensina II y la neurotensina (Gómez y Escobar, 2002; Sandy, et al., 2001; McEwen, 2000).

Además del sistema nervioso autónomo, el eje hipotálamo – pituitaria – adrenal (HPA) es el principal efector de la respuesta de estrés; su único

componente nervioso es la subdivisión medial parvocelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (NPVH), que secreta el factor liberador de la corticotrofina (CRF o CRH) y arginina-vasopresina, llevadas a través de los capilares del sistema portahipofisiario al órgano blanco, las células corticotróficas de la adenohipófisis. Las células corticotróficas en la adenohipófisis liberan, a su vez, adrenocorticotrofina (ACTH), que pasa al torrente sanguíneo y alcanza su órgano blanco en la corteza de las glándulas suprarrenales, cuyas partes fasciculada y reticular secretan glucocorticoides, principalmente cortisol (ser humano) o corticosterona (rata) en respuesta a la estimulación del ACTH (Gómez y Escobar, 2002; Johnson, *et al.*, 1992).

1.2 – LOS GLUCOCORTICOIDES COMO EFECTORES FINALES DEL ESTRÉS

Los glucocorticoides son los efectores finales del eje HPA y los principales reguladores del mismo, al interactuar con sus receptores ubicados en la hipófisis, hipotálamo y regiones extrahipotalámicas como el locus coeruleus, algunos núcleos de los nervios craneales, la región ventral y subicular del hipocampo, el núcleo central de la amígdala, la corteza prefrontal, el septum lateral y los núcleos del rafé (Gómez y Escobar, 2002, Sapolsky, *et al.*, 2000). Para entender el mecanismo de los glucocorticoides, sus acciones se han separado en dos categorías principales: modulación y preparación (Sapolsky, *et al.*, 2000). Las acciones moduladoras de los glucocorticoides son aquellas que cambian las respuestas de un organismo a un estresor. Las acciones de preparación son las que cambian la respuesta del organismo a un estresor subsecuente o ayudan en la adaptación a un estresor crónico.

Las acciones moduladoras se dividen a su vez en 3 categorías:

1. Permisiva: Las acciones son ejercidas por los glucocorticoides presentes antes del estresor y principian los mecanismos por el cual un organismo responde al estrés. Sus consecuencias son primeramente manifestadas durante la fase inicial de la respuesta del estrés. Preparan al organismo a afrontar el estrés (Sapolsky, *et al.*, 2000).

-
2. Supresivas: Estas acciones son atribuibles a la elevación en la concentración de glucocorticoides dados por el estrés, las cuales ocurren en una hora o más después de la interacción con el estresor. Estas acciones relativamente deprimen la respuesta hormonal en las reacciones de defensa y previenen al organismo de una sobre exposición o de una excesiva respuesta al estrés (Sapolsky, *et al.*, 2000).
 3. Estimuladoras: Estas acciones son también atribuibles a la primer ola hormonal y se presenta por lo regular, después de una hora o más. Están caracterizadas por mejorar los efectos de la primer ola de respuestas hormonales y así, revierte las acciones supresoras (Sapolsky, *et al.*, 2000).

La regulación clásica de la actividad del eje HPA por los glucocorticoides está mediada por su interacción con receptores específicos (Vallés, *et al.*, 2002). Los receptores de los glucocorticoides están distribuidos por todo el cerebro. Las acciones de los glucocorticoides en el sistema nervioso central están mediadas por dos tipos de receptores: los tipo 1 y tipo 2. Los tipo 1, también llamados receptores de corticosterona, se encuentran en neuronas del sistema límbico. Estos receptores tienen el rol de modular la respuesta al ambiente y las emociones. Estos receptores tienen alta afinidad por los glucocorticoides primarios: cortisol o corticosterona. Los receptores tipo 2 se encuentran en el hipotálamo, el hipocampo, el septum lateral, la amígdala y el núcleo del tracto solitario. Los receptores tipo 2 son los que tienen más actividad en la respuesta del estrés que los tipos 1 (Johnson, *et al.*, 1992).

Como es posible apreciar, el sistema hormonal que es activado por el estrés actúa sobre estructuras bien diferenciadas, ocasionando respuestas secuenciales vitales para mantener la homeostasis a través de la liberación y regulación de hormonas.

Una de las hormonas más importantes ante el estrés es la corticosterona (roedores). Esta hormona es producida a partir del colesterol en la corteza adrenal. Se ha encontrado una relación directa en la liberación de esta hormona en individuos sometidos a estrés (Bowman, 2001). Por ejemplo, en el estudio realizado por Shors (2001) encontró que se elevaban los niveles de corticosterona al estresar a individuos bajo 3 tipos de estresores: Choques en la cola, estrés por ruido y estrés por nado comparado con respecto a individuos no estresados.

Como se observa, un efecto estresante afecta la liberación de corticosterona. Es tal la homogeneidad de los resultados, que podemos afirmar que un cambio en los niveles de corticosterona puede servir como un índice de que el individuo fue estresado (Beiko *et al.*, 2004).

1.3 – DIFERENCIACIÓN DE LOS ESTÍMULOS ESTRESORES.

Como se mencionó anteriormente, de acuerdo al tipo de estresor que se esté utilizando, será la respuesta del organismo. Dependiendo de las características de cada estímulo estresante, estos se han clasificado en dos principales categorías: emocionales (también descritos como neurogénicos o psicológicos) y sistémicos (también conocidos como físicos, homeostáticos o fisiológicos), cabe destacar que esta diferencia aún no es clara de realizar, ya que en ocasiones, situaciones estresantes tienen en cierta medida, combinando las dos categorías. Algunos ejemplos de estresores psicológicos son los estresores sociales (novedad, aislamiento social) y otros estresores principalmente emocionales con un componente físico (ruido, choques eléctricos, nado forzado o restricción). Los estresores físicos tienen un rango inmunológico (administraciones de endotoxinas y citoquinas) a cambios metabólicos y osmóticos (administraciones de insulina y 2 desoxiglucosa, inyecciones hipertónicas de sal) entre otros (exposición de éter, ejercicio, exposición al frío, hipoxia) (Sánchez, 2002). Se han llevado a cabo varios estudios para evaluar al efecto diferencial de los estímulos estresores. Nekane *et al.* (1985) evaluaron la participación de la hormona corticotropina en diferentes condiciones de estrés como: traumático, por éter, por frío y por

restricción, encontrando que la secreción de esta hormona se hace más evidente en el estrés por éter sin encontrar diferencias entre las demás condiciones. En el estudio realizado por Pacák, *et al* (1995) se evaluaron cinco diferentes estresores (restricción, frío, hipoglucemia inducida, hemorragia y dolor) bajo condiciones agudas, midiendo ACTH en plasma, corticosterona, noradrenalina, adrenalina en el núcleo paraventricular, así como la activación del gen *c-fos*. La actividad del gen *c-fos* es diferencial en los tipos de estrés, teniendo altos niveles de actividad en el estrés por restricción y el estrés por dolor en el hipocampo, sistema límbico, y los grupos de células catecolaminérgicas A1, A5, A6 y A7. El estrés agudo por inmovilización descendió significativamente las concentraciones de noradrenalina y de dopamina (DA) en el núcleo paraventricular y dorsomedial. Sin embargo, utilizando microdiálisis *in vivo* se encontró que una exposición aguda de estrés (2 hrs) aumenta la síntesis, liberación y recaptura de noradrenalina en el núcleo de la estría terminal. Por el contrario, el estrés por frío, hipoglucemia y hemorragia evocaron un pequeño incremento en niveles extracelulares de noradrenalina en el núcleo paraventricular. El estrés por dolor, así como el estrés por inmovilización elevaron la actividad de ACTH, corticosterona, noradrenalina y adrenalina en plasma.

En otro estudio, Das, *et al.* (2005) midió la actividad de la acetilcolina en diferentes áreas cerebrales de individuos sometidos a 3 diferentes tipos de estresores: estrés agudo por inmovilización, estrés crónico predecible y no predecible. Se encontró que el estrés crónico no predecible fue la forma de estrés que provocó la mayor disminución en la concentración de acetilcolina en todas las áreas cerebrales con excepción del hipocampo, en comparación del estrés agudo por inmovilización o que el estrés crónico predecible.

Como se puede apreciar, cada uno de los diferentes tipos de estresores actúan de cierta manera dentro de la respuesta del organismo, posiblemente debido a que utilizan vías metabólicas y neurotransmisores diferentes que actúan dependiendo del tipo de estresor (Sánchez, 2002).

Asimismo, el tiempo de exposición a un estresor provoca diferentes respuestas (Sandy, *et al.*, 2001). Por ejemplo el estrés crónico (choques eléctricos, nado en agua fría, restricción prologada de 6 hrs diarias por 28 días) provoca una deformación morfológica de las neuronas, mientras que el estrés agudo (por ejemplo restricción por 1 ó 3 hrs) no provoca una deformación en las neuronas del hipocampo, sin embargo en animales estresados se observa una mala ejecución en el laberinto de brazos radiales comparado con individuos no estresados (Bowman, *et al.*, 2001). En el estudio realizado por Tanaka, *et al* (1982) la exposición a 15 y 30 min de estrés no afectó los niveles de noradrenalina en el hipotálamo, hipocampo, amígdala, tálamo, corteza cerebral, cerebro medio y ganglios basales. En contraste, una exposición de 60 a 120 min descendió los niveles de noradrenalina en hipocampo, hipotálamo, amígdala, tálamo y corteza cerebral.

1.4 – LA DOPAMINA Y SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS.

La DA es un neurotransmisor necesario para la formación de varias funciones cognitivas, sin embargo no está exento del estrés, ya que varias líneas de investigación sugieren el papel de la DA está asociada con mecanismos referentes a la neurobiología del estrés (Caleb, *et al.*, 2000), ya que se ha identificado la síntesis, liberación y recaptura de DA durante la respuesta de estrés del eje hipotálamo – pituitario – adrenal (Sánchez, 2002). Asimismo, en estudios preclínicos, el incremento en la recaptura de DA y la liberación dopaminérgica estriatal han sido asociados con una variedad de paradigmas de estrés incluyendo choques eléctricos en cola y patas y en la restricción (Chrapusta, *et al.*, 1997). Se ha encontrado una liberación significativa de DA en el núcleo accumbens y en estriado en individuos sometidos a estrés por choques eléctricos en las patas (Takahashi, *et al.*, 2005). Es claro entonces que la DA actúa de manera activa en la respuesta del estrés dándose una liberación de éste neurotransmisor.

Las estructuras cerebrales en las que actúa la DA en el estrés son principalmente la corteza mesoprefrontal, el sistema límbico y las áreas estriatales (Cenci, *et al.*, 1998). Se ha identificado al estriado ventral como la

zona del estriado más susceptible a estrés (Pani, *et al.*, 2000). Asimismo, se ha hipotetizado que el sistema dopaminérgico puede discriminar representaciones neurales para diferentes tipos de estrés, por ejemplo, el estrés por restricción incrementa significativamente la liberación de DA en la corteza mesoprefrontal anterior y el septum del núcleo accumbens, pero cuando se aplican choques eléctricos en la cola evocan un enorme incremento en la corteza mesoprefrontal sin tener efecto alguno en el estriado (Gresch, *et al.*, 1994).

2. – ANSIEDAD. El principal reflejo de una homeostasis alterada.

2.1 – BASES BIOLÓGICAS DE LA ANSIEDAD

La ansiedad normalmente ocurre en situaciones percibidas como amenaza o peligro (Judd, *et al.*, 1985). La ansiedad es una respuesta a diferentes tipos de estresores, los cuales producen diferentes trastornos de ansiedad (Kandel, *et al.*, 2001; Clement y Chapouthier, 1998;; Kim y Yoon, 1998). La American Psychiatric Association's Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM – IV) subdivide los desordenes de ansiedad en dos grandes subdivisiones: Desordenes de fobia y estados de ansiedad.

Los desordenes de fobia son subdivididos en agorafobia con o sin ataques de pánico, fobia social y fobia simple (Judd, *et al.*, 1985).

Los estados de ansiedad son subdivididos en desordenes de pánico, desorden de ansiedad generalizado, desorden obsesivo compulsivo y desorden de estrés post-traumático (Judd, *et al.*, 1985).

El desorden de fobia social ha sido uno de los más importantes ya que se le ha asociado con una alta tasa de mortandad. El desorden es caracterizado por un miedo excesivo e irrazonable a las interacciones sociales, donde el temor de los individuos es percibido negativamente por otros miembros de la comunidad, asimismo se caracteriza por una interpretación excesivamente negativa ante los eventos sociales externos, detección exagerada de aspectos negativos de otras personas, un desequilibrio de atención y una memoria exagerada para eventos negativos (Mendlowicz y Stein, 2000). El inicio del síndrome se da en la niñez y persiste hasta la adultez. En el estudio del desorden de fobia social, se ha identificado una disfunción en varias áreas cerebrales: amígdala, hipocampo, corteza prefrontal y el estriado (Sareen, *et al.*, 2007).

El desorden de ansiedad generalizado es uno de los síndromes más comunes caracterizado por hipervigilancia, despertamiento, incremento en la tensión muscular, temblor y palpitaciones. La neuroanatomía de este síndrome fue identificada por Wu, *et al.*, (1991) al estudiar a 18 pacientes con desórdenes de ansiedad generalizados durante una prueba visual pasiva, encontrando una tasa metabólica más elevadas en los lóbulos occipitales, temporales, frontales y en el cerebelo y tálamo comparado contra individuos sanos. Asimismo, se han identificado diferentes estructuras cerebrales que participan durante la respuesta de ansiedad, tales como amígdala, hipocampo, corteza prefrontal, hipotálamo, estructuras del tectum medial y estriado (Brandão, *et al.*, 2003; Kalin *et al.*, 2004).

Por último, el desorden de estrés post-traumático está ligado directamente con experiencias muy estresantes, con situaciones que amenazan la vida del individuo o potencialmente pueden provocar un serio daño físico, en el cual el individuo responde con un miedo intenso, impotencia y horror. La psicobiología del estrés post-traumático se enfoca principalmente en el eje HPA y el sistema de las catecolaminas. Los efectos directos e indirectos del estrés post-traumático son que aumenta la recaptura de catecolaminas en el cerebro, sistema nervioso simpático y médula adrenal, los cuales incrementan el ritmo cardíaco, presión sanguínea, tasa metabólica, alerta y catecolaminas tales como noradrenalina, adrenalina y DA (Langeland y Olf, 2007).

Durante el estrés severo, el locus coeruleus estimula al eje HPA vía conexiones indirectas a través del sistema límbico. Este eje estimula la liberación de adrenocorticotropina y cortisol (corticosterona en ratas) los cuales provocan cambios conductuales y alerta intensa (Langeland y Olf, 2007).

Como se vislumbra, los desórdenes de ansiedad provocan respuestas bien diferenciadas sobre los sistemas cerebrales y los sistemas catecolaminérgicos.

2.2 – EL ESTRIADO Y SU RELACIÓN CON LA ANSIEDAD.

Numerosas estructuras límbicas y corticales están interconectadas y han sido implicadas en mecanismos emocionales los cuales determinan y modulan el estado de ansiedad (Fig. 1) (Millán, 2003). Las vías implicadas incluyen proyecciones al hipocampo y cuerpos mamilares, los cuales están conectados al núcleo anterior del tálamo. El tálamo está conectado a su vez a la corteza cingulada, la cual cierra el circuito al conectarse de vuelta al hipocampo. Asimismo, la amígdala participa en este circuito conectándose con la corteza frontal y otros núcleos subcorticales, como el septum, el núcleo accumbens y la estría terminal (Millán, 2003).

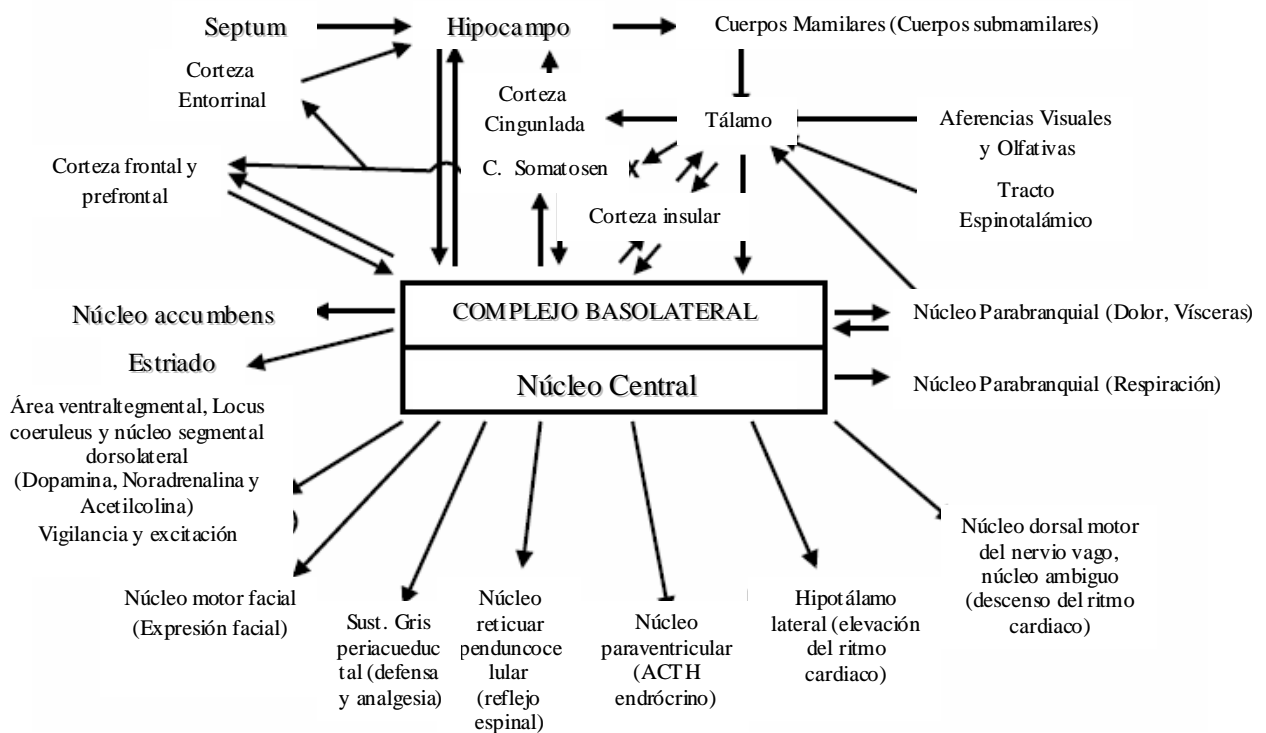


Figura 1. Representación esquemática de la organización de las estructuras involucradas en la integración e inducción del estado de ansiedad, en particular miedo condicionado. (Millán, 2003).

Como se ha aclarado, el estriado recibe aferencias desde la amígdala y asimismo, proyecta eferencias de regreso a la amígdala a través de las terminales estriatales (Millán, 2003). Entonces es posible apreciarse una participación activa del estriado en los estados de ansiedad.

En el estudio realizado por Sareen, *et al.*, (2007) se compararon individuos con fobia social generalizada con individuos normales resonancia magnética, encontrando que al aplicarles una tarea SRT (Serial Reaction Time) los individuos con fobia social generalizada tuvieron significativamente menor flujo sanguíneo en el núcleo caudado izquierdo que los individuos normales. Estos resultados sugieren una disfunción del sistema estriatal, el cual produce una importante disfunción motora social, tal como el movimiento de los ojos, el habla y el sonreír. Estas disfunciones motoras pueden llevar a interpretaciones negativas relacionadas con la capacidad de enfrentarse a nuevas situaciones sociales. Estas interpretaciones negativas pueden llevar a grandes niveles de ansiedad y por tanto a una anulación social.

Además de los estudios anteriores y debido a que se tratará a fondo más adelante, se ha observado una participación muy importante de todo el sistema dopaminérgico estriatal en la modulación de la ansiedad.

2.3 – LA DOPAMINA Y SU RELACIÓN CON LA ANSIEDAD

Como se mencionó previamente, la DA tiene una respuesta bien establecida en respuesta al estrés por las vías dopaminérgicas mesolímbicas y mesocorticales, por lo tanto se deduce que estas vías pueden tener una relación con la ansiedad. La DA liberada especialmente en el estriado, está relacionada con procesos de ansiedad, sin embargo las vías y la relación dopaminérgica es compleja y pobremente estudiada. Se han podido identificar dos vías dopaminérgicas que responden de manera diferente a la ansiedad: el sistema mesolímbico dopaminérgico responde al estrés con el aumento en la recaptura de DA, el cual es bloqueado por ansiolíticos del tipo de las benzodiazepinas, en contraste, el sistema dopaminérgico nigroestriatal que no se ve afectado por este efecto ansiolítico (Brose, *et al.*, 1987; McMillen y McDonald, 1983). De igual manera se ha identificado que receptores de la familia D1 producen respuestas ansiolíticas (Giardino, *et al.*, 1998).

Si bien las benzodiazepinas son drogas importantes en el tratamiento de la ansiedad, otra droga, la buspirona que es un antagonista parcial de los

receptores 5 – HT1a de la serotonina, se ha identificado como un poderoso ansiolítico usado clínicamente. La buspirona además de bloquear los autoreceptores presinápticos mesolímbicos dopaminérgicos de la familia D2, libera dopamina la cual estimula los receptores postsinápticos mesolímbicos D2 y D1 en dosis de 0.625 a 5 mg/kg. A dosis más elevadas (10, 20 y 40 mg/Kg) se bloquean los receptores estriatales mesolímbicos D1 y D2, por lo anterior se puede deducir que al inhibir los autoreceptores dopaminérgicos estriatales, se da una respuesta ansiolítica (Hashimoto, 2000).

Como es posible apreciar, la serotonina al igual que la dopamina juega un papel muy importante en el control de la ansiedad. Las neuronas serotoninérgicas se congregan en el núcleo del rafé y proveen aferencias hacia las estructuras cortico – límbicas (hipocampo, amígdala e hipotálamo) involucradas en el control de los estados de ansiedad (Millán, 2003).

Como se aclaró en este apartado, la ansiedad puede producir diversos trastornos, los cuales se reflejan en sistemas monoaminérgico que actúan en diferentes zonas cerebrales, sin embargo, en nuestro estudio, es necesario hacer hincapié en los efectos que pueda tener la ansiedad sobre la memoria y cómo se afecta la ansiedad a través del ciclo estral.

3. MEMORIA. Los procesos bioquímicos de la información y su respuesta ante el estrés.

3.1 – BASES BIOLÓGICAS DE LA MEMORIA

La respuesta del estrés produce efectos sobre la memoria, por lo que es necesario un entendimiento de sus características, definiciones, procesos bioquímicos de la formación de ésta, así como una identificación de las estructuras cerebrales involucradas para un entendimiento de cómo la respuesta del estrés puede influir sobre la memoria.

Escobar y Gómez (2006) definen la memoria como:

- Cambio duradero sobre la conducta o sobre la conducta potencial que resulta de la experiencia conductual del individuo.
- Retención temporal de la información aprendida
- Retención temporal de la experiencia que depende de representaciones internas o de la capacidad para reactivar o reconstruir tales representaciones.

En pocas palabras, la memoria es la manera en la que el cerebro guarda la información y la recupera.

La memoria se clasifica de varias formas, dependiendo de su contenido (las memorias explícita e implícita) y de acuerdo a su duración (memoria a largo plazo y memoria a corto plazo) (Vianna, *et al.*, 2000).

La memoria explícita codifica información sobre acontecimientos autobiográficos, así como sobre conocimientos de hechos. Su información depende de procesos cognitivos tales como evaluación, comparación e inferencia. Las memorias explícitas pueden recordarse por un acto deliberado de evocación. A veces se establece con un solo ensayo o experiencia (Kandel, *et al.*, 2001).

La memoria implícita es de carácter automático, este tipo de memoria se acumula lentamente mediante la repetición a lo largo de muchos ensayos, se manifiesta básicamente por un aumento en el rendimiento (Kandel et al., 2001).

Cabe destacar que la memoria a corto y largo plazo son fenómenos independientes, reclutando células y cascadas metabólicas de manera separada, dado que varios neurotransmisores trabajan de una manera selectiva en los procesos de corto y largo plazo. Sin embargo es posible encontrar similitudes entre estos tipos de memorias en cuanto a un uso de receptores y post-receptores (Vianna, *et al.*, 2000).

3.2 – ESTRUCTURAS CEREBRALES IMPLICADAS EN LA FORMACIÓN DE LA MEMORIA

Se ha identificado que diferentes áreas cerebrales participan en diferentes tipos de memoria, así, la memoria explícita implica diferentes mecanismos en el lóbulo temporal. Este sistema de memoria incluye al hipocampo, corteza entorrinal, subíulum y corteza parahipocampal. El hipocampo es un almacén temporal de la memoria a largo plazo. En última instancia transfiere la información aprendida a otras áreas, a la corteza cerebral para su almacenamiento duradero (Kandel, *et al.*, 2001; Sandy, *et al.*, 2001; Izquierdo y Medina, 1997). La amígdala facilita el proceso de consolidación de memorias emocionales por vías neurales y hormonales, ya que existen proyecciones neuronales directas desde la amígdala al hipocampo (giro dentado) y corteza cerebral (incluida la corteza prefrontal). A nivel hormonal, la activación de la amígdala puede resultar en la estimulación de la liberación de catecolaminas periféricas (Sandy, *et al.*, 2001).

Al estriado se le ha asociado con formación de las memorias espacial y no-espacial (Izquierdo y Medina 1997; Packard y McGraw, 1996), así como de memoria para información allocéntrica y egocéntrica y memoria motora y declarativa a través de rutas metabólicas dopaminérgicas (Colombo, *et al.*, 2003), así como aprendizaje de tipo estímulo respuesta (Featherstone y McDonald, 2005).

En el estudio realizado por Yin y Knowlton (2004), usando un estímulo alimenticio se evaluó el papel de las regiones del estriado en el aprendizaje, encontrando que lesiones en el núcleo dorsomedial posterior del estriado provoca una respuesta no estratégica al ser entrenadas en el laberinto en “T”, esto habla de un fallo en el aprendizaje espacial ya que el sujeto no aprendió a discriminar el brazo del laberinto donde se había puesto al alimento. Una lesión en el núcleo dorsomedial anterior y el estriado dorsolateral provocó la respuesta contraria ya que el individuo hacía uso de una estrategia espacial.

Además de las cascadas metabólicas y flujo de información del hipocampo a otras estructuras, se ha considerado la existencia de un flujo paralelo de múltiples sistemas para el almacenaje y recuerdo de la memoria. Las estructuras participantes son el estriado dorsal, hipocampo y amígdala. La información que llega a uno de estos sistemas es procesada e integrada. Se almacena y producen salidas que promueven ciertas y específicas respuestas o tendencias de comportamiento. Cada uno de estos sistemas actúa independientemente, sin embargo un sistema puede directamente influenciar otro para facilitar o retardar su función. Asimismo, los sistemas pueden cooperar o competir a la misma respuesta o conducta (White y McDonald, 2002)

3.3 – LA DOPAMINA EN LA FORMACIÓN DE LA MEMORIA.

Los neurotransmisores, los neuropéptidos y moléculas no peptídicas juegan un papel crítico en los procesos relacionados con el aprendizaje y la memoria (Gulpinar y Yegen, 2004). La DA es un neurotransmisor importante en la consolidación de la memoria. Se ha encontrado que la infusión de agonistas dopaminérgicos en la zona CA1 del hipocampo, mejoran la formación de la memoria. Asimismo, la administración intraperitoneal de agonistas D₁ facilita la tarea de reconocimiento de objetos y localización de objetos tras un periodo de 4 hrs (Hotte, *et al.*, 2005). Así, los mecanismos dopaminérgicos forman la base del sistema de memoria mediados por el sistema GABAérgico (Izquierdo y Medina, 1997).

Se ha observado que la lesión del área ventral tegmental, donde se encuentran los cuerpos celulares de las células dopaminérgicas produce un deterioro en tareas de alternación, lo que demuestra una pérdida de memoria espacial de trabajo. Asimismo, lesiones en las terminales dopaminérgicas que proyectan al estriado ventral anterior y a la corteza prefrontal, muestran el mismo patrón (Simon, 1981). También, se ha encontrado que una concentración elevada de DA puede llevar a un déficit de memoria espacial (Murphy, *et al.*, 1996).

3.4 – MEMORIA Y ESTRÉS: RELACIÓN Y EFECTOS SOBRE EL ORGANISMO

Como se mencionó anteriormente el estrés produce efectos de pérdida de memoria (Beiko, *et al.*, 2004; Conrad, *et al.*, 2003a; 2004; Bowman, *et al.*, 2001; Woodson, *et al.*, 2003; Kim y Diamond, 2002; Korol, *et al.*, 2004). Dependiendo del tipo de tarea empleada, es la memoria que se ve afectada (espacial, emocional, de procedimiento, etc.) y por lo tanto, las estructuras cerebrales involucradas.

Por ejemplo, en el estudio realizado por Stillman, *et al.*, (1998) se estudiaron los efectos del estrés por restricción y el estrés por frío por cinco días (1 hora/día), o una combinación de ambos, sobre la memoria espacial de ratas macho Fischer 334 en el laberinto de brazos radiales; se encontró que antes del estrés aplicado, los individuos realizaron buenas ejecuciones mostrando una curva normal de aprendizaje. El día que los individuos se sometieron a estrés por restricción, las ejecuciones fueron significativamente menores que los días anteriores, de igual manera pasó con el estrés por frío. Asimismo, cuando se combinaron los estresores, se mostró una peor ejecución que los individuos sometidos a solo un tipo de estrés. Resultados similares fueron encontrados por Klenerová, *et al.*, (2002) al probar a dos cepas de ratas en una tarea de evitación inhibitoria para medir el nivel de adquisición, aprendizaje y memoria bajo condiciones de estrés por inmovilización y por frío, encontrando que los individuos sometidos al estresor combinado lograron una deficiente adquisición comparados con los individuos no estresados. En una extensión del

estudio anterior (Klenerová, *et al.*, 2003) encontraron los mismos resultados, mostrando que en ratas macho una exposición de una hora anterior al entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria, deterioró la adquisición independientemente de la cepa utilizada. De igual manera en este estudio se midió la participación de la corticosterona en la retención y formación de la memoria, encontrando que se elevaban los niveles de esta hormona en individuos estresados. Además de estos resultados, se encontró que al estresar a los individuos una hora antes de la prueba, se deterioraba la formación de la memoria, pero cuando se estresaban cuatro horas antes del entrenamiento, los individuos no presentaban diferencias significativas en comparación con el grupo control no estresado, esto nos puede indicar que las cascadas metabólicas formadas por el estrés, regresan a sus niveles basales pasado un lapso de cuatro horas.

En el estudio realizado por Sandi, *et al.*, (2005) donde ratas expuestas a un depredador (gato) macho fueron entrenadas para encontrar una plataforma escondida en un laberinto de brazos radiales de agua, se encontraron los mismos resultados. Individuos no estresados lograron una adquisición y una retención normal, sin embargo, al probar los individuos estresados, los resultados fueron estadísticamente menores a los anteriores. Del mismo modo, en este estudio se midió la adhesión molecular de células neurales (componente al cual se le atribuye una participación activa en la potenciación a largo plazo y formación de la memoria) en el hipocampo, arrojando que en los individuos sometidos a estrés, se dio un dramático decremento en la formación de esta adhesión molecular comparada con individuos no estresados o individuos que solo completaron el entrenamiento y no fueron estresados.

Es claro entonces que el estrés tiene un efecto sobre la memoria. La mayoría de la bibliografía apunta a que se da una pérdida en la formación, adquisición y retención de la memoria al aplicar estrés, sin embargo, se ha reportado todo lo contrario, encontrándose que el estrés también puede facilitar la memoria. Por ejemplo, en el trabajo llevado a cabo por Gouirand y Matuszewich (2005) se midieron los efectos de estrés crónico impredecible (por 10 días) en ratas macho Sprague Dawley en el laberinto de agua de Morris,

encontrando que las ratas sometidas al estrés recorrieron en total menos distancia que las ratas no estresadas, demostrando así, que las ratas estresadas lograron una mejor adquisición de memoria que ratas no estresadas.

En otro estudio, realizado por Shors (2001) donde se estresaron ratas con 4 estresores diferentes, se encontró que el estrés por choques eléctricos en la cola y el estrés por nado forzado, mejoraron la respuesta de parpadeo condicionado.

Debido a esta inconsistencia de resultados, es necesario un mayor número de estudios donde se tome en cuenta los diferentes tipos de estresores, su duración, el paradigma donde se lleven a cabo y el tiempo de estos, ya que estas condiciones pueden ser las que lleven a cabo estas diferencias de resultados.

Como se mencionó previamente la exposición a estrés produce una liberación de hormonas. Debido a esto, varios trabajos señalan la participación de los glucocorticoides en la modulación de la memoria. Se han observado casos contrastantes, encontrándose que al estresar a los individuos, la corticosterona eleva su concentración y deteriora la formación y la adquisición de la memoria (Klenerová, *et al.*, 2002, 2003). Sin embargo, se ha demostrado que al quitar la corticosterona endógena en individuos sometidos a estrés, se da un déficit de memoria (Roosendaal, 2004).

Los resultados anteriores muestran que el efecto de los glucocorticoides sobre la memoria es una U invertida, teniendo que dosis moderadas de glucocorticoides mejoran la formación de la memoria, mientras que dosis altas, pueden ser menos efectivas o incluso deterioran la retención y de la memoria (Beiko, *et al.*, 2004; Roosendaal, 2002, 2004).

Los glucocorticoides, en especial la corticosterona, juegan un papel muy importante en la formación de memoria. De igual manera, la secreción de glucocorticoides depende también del tiempo de exposición a estrés al que se

sometan los individuos. La concentración específica a la que los glucocorticoides mejoran o empeoran la formación de la memoria, así como el metabolismo concreto por lo que lo hacen es aún desconocida, así que son necesarios mas estudios para el entendimiento de cómo estas hormonas regulan la formación y adquisición de la memoria.

3.4.1 – LA DOPAMINA Y SU RELACIÓN CON LA MEMORIA Y EL ESTRÉS

Se ha estudiado el papel que juega la DA sobre los efectos del estrés en la memoria. Zahrt, *et al.*, (1997) reportaron que al someter a ratas a estrés por restricción, se observa un aumento de DA y un déficit en memoria. En otro estudio se encontró que al aplicar estrés crónico, se daba un incremento en la liberación de DA en corteza prefrontal y la pérdida en el reconocimiento de objetos. Otros estudios han encontrado que el incremento en la liberación y recaptura de DA en la corteza prefrontal está asociado con la pérdida de memoria espacial de trabajo en ratas (Murphy, *et al.*, 1996). Bowman *et al.*, (2001) propusieron un modelo de “U” invertida para el metabolismo de la DA en individuos estresados, en el cual, poca o mucha DA afecta de manera diferencial la memoria.

4. EL CICLO ESTRAL. Las diferencias sexuales ante las funciones cognitivas y el estrés.

4.1 – BASES BIOLÓGICAS DEL CICLO ESTRAL

El ciclo reproductivo de la rata hembra es llamado ciclo estral y está caracterizado por cuatro etapas: Proestro (P), estro, (E), Metaestro o diestro 1 (D1) y diestro 2 (D2). La ovulación ocurre desde el inicio del P, hasta el final del E. Desde el inicio de la madurez sexual de la rata hasta los 12 meses de edad de la rata, las cuatro etapas del ciclo estral se dan por lo regular en cuatro días (Marcondes, *et al.*, 2002). Este periodo de duración del ciclo estral fue confirmado por Marcondes, *et al.* (2002) donde ratas hembras Wistar fueron cicladas durante un mes demostrando que del 60 al 70 % de las ratas cicladas siguieron una duración de cuatro días para las cuatro etapas del ciclo estral.

Durante las etapas del ciclo estral se dan una serie de cambios hormonales bien definidos. Durante la etapa de P, por la tarde (también llamado proestro tardío), los niveles de prolactina, hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) llegan a su máximo valor. Los niveles de estradiol comienzan a elevarse en el D1, alcanzando su nivel máximo durante el P y descendiendo a niveles basales durante la fase de E. La progesterona también se eleva durante la fase de D1 y D2, pero decrece rápidamente después. Ya al final de la fase de P (P tardío) los niveles de progesterona alcanzan su segundo pico máximo, para después decaer al llegar a la fase de E (Marcondes, *et al.*, 2002).

Para la determinación de cada una de las fases del ciclo estral, es necesario la toma de muestras citológicas por un frotis vaginal.

Por lo anterior, al usar a las ratas hembras como modelo experimental, es necesario tomar en cuenta la etapa del ciclo estral en la que se encuentren, ya que, como veremos más adelante, cada una de las etapas influyen de alguna manera el comportamiento.

4.2 – RELACIÓN ENTRE EL CICLO ESTRAL Y EL ESTRÉS

Se han observado diferencias de género en la respuesta al estrés.

En un estudio, donde se analizaron las diferencias sexuales ante el nado forzado en el Laberinto de agua de Morris se encontraron diferencias significativas en los diferentes individuos sobre la concentración de corticosterona (un índice de la respuesta del estrés). Se encontró que al pre – entrenar a ratas hembras en el laberinto se dieron niveles de corticosterona menores que en machos igualmente pre – entrenados (Beiko, *et al.*, 2004).

Conrad *et al.* (2004) encontraron que cuando se sometía a ratas macho y hembra a estrés por restricción durante una hora, los machos estresados mostraron los peores resultados en el laberinto en Y, comparado con las ratas hembras estresadas. Asimismo, dentro de la respuesta del estrés sobre la etapa del ciclo estral, las ratas en P mostraron una mejor ejecución que ratas en E, sin embargo, los resultados no fueron significativamente diferentes. En cuanto a la concentración de corticosterona, no se encontraron diferencias entre ninguno de los grupos, sugiriendo la participación de otra hormona glucocorticoidea en esta respuesta o la influencia del pre – entrenamiento.

Nuevamente, hay que considerar la duración y naturaleza del estresor para completar nuestro estudio, curiosamente, se han encontrado resultados similares cuando se estresan crónicamente a individuos. Por ejemplo, cuando se analizó el efecto del estrés crónico (seis horas diarias de estrés por restricción durante 21 días) en ratas hembras y machos sobre la ejecución en el laberinto elevado en Y se encontró que todos los individuos mostraron una ejecución mala, sin embargo, después del primer minuto de prueba en el laberinto, las ratas hembras fueron mostrando una mejoría en su ejecución, sin embargo, los machos no mostraron ninguna diferencia en cuanto a su ejecución (Conrad *et al.*, 2003a).

Dados los resultados anteriores, es probable que la diferencia en cuanto a la respuesta del estrés pueda deberse a la etapa del ciclo estral y por lo tanto, a

las hormonas ováricas presentes. En un experimento, se analizó el efecto de estradiol sobre la respuesta neuroquímica y conductual de ratas ovariectomizadas sometidas a estrés crónico por restricción (seis horas por 21 días) en el laberinto de brazos radiales. Los resultados fueron que el grupo tratado independientemente si hubiera sido estresado o no mostró una mejor ejecución en el laberinto que el grupo control, tratado con un vehículo de colesterol. Asimismo, no hubo diferencias significativas en cuanto a la realización de la tarea entre los individuos estresados y no estresados, ambos sometidos a un tratamiento de estradiol (Bowman, *et al.*, 2002). Estos resultados apuntan a que el tratamiento de estradiol de alguna manera “protege” a los individuos de los efectos del estrés.

En síntesis, los cambios entre las respuestas de los organismo al estrés pueden verse afectadas por el género. La mayor parte de la bibliografía indica que los efectos del estrés no son tan notables en ratas hembras como en ratas machos. Asimismo, en las ratas hembras se da una respuesta similar, mostrando que etapas del ciclo estral donde las hormonas están bajas, los efectos del estrés son mucho más notables que en otras etapas.

4.3 – RELACIÓN ENTRE EL CICLO ESTRAL Y LA MEMORIA

Dentro del estudio de la memoria se han encontrado diferencias de género en el aprendizaje y la memoria. Se ha notado que hembras sometidas a diferentes tareas para medir memoria tienden a variar el desarrollo de la tarea y también se ha visto que esta variabilidad está dada por la etapa del ciclo estral en la que se encuentren los individuos. De estos resultados se deduce que el ciclo estral influye de alguna manera la adquisición y retención de la memoria. Un ejemplo de este fenómeno se analiza en el trabajo de Sutcliffe, *et al.* (2007) donde se analizó el efecto del ciclo estral en la memoria espacial y memoria de trabajo en un modelo de reconocimiento de objetos nuevos. Se encontró que las ratas hembras mostraron ser mejores que los machos en el reconocimiento de objetos nuevos. En cuanto a las diferencias de acuerdo a la etapa del ciclo, se mostró que las ratas hembras en la etapa de E tienen mejor memoria espacial que ratas en otras etapas del ciclo estral.

Walf *et al.* (2006) en contraste con el estudio anterior, encontraron que al exponer a ratas hembras al mismo modelo, los mejores resultados se daban en la etapa de P. La diferencia principal entre ambos estudios probablemente se deba al lapso de tiempo que ocurrió entre los ensayos, Sutcliffe y sus colaboradores realizaron la prueba post entrenamiento en un lapso de una hora, y en el otro estudio se realizó a las cuatro horas. Entonces puede ser que en el estudio de Sutcliffe no se alcanzara el pico máximo de estrógenos que se alcanza en el P tardío.

Como lo señala la bibliografía, los cambios en el resultado de las tareas son debidos a las hormonas que se presentan en cada una de las etapas. Varios autores han evaluado el efecto sobre la memoria de estas hormonas individual y conjuntamente en varios ensayos. Por ejemplo, en el estudio realizado por Maki *et al.*, (2002) donde se analizó el efecto de el ciclo menstrual de mujeres jóvenes sobre la memoria implícita y explícita se encontró que la memoria implícita varía durante el ciclo menstrual encontrándose que durante la fase del ciclo donde la concentración de estrógenos y progesterona son más elevados se da una mejor formación de este tipo de memoria que en fases donde estas hormonas se encuentran en niveles basales. Contrario a estos resultados, la memoria explícita no varió durante las fases.

Sandstrom y Williams (2004) analizaron el efecto del estradiol sobre ratas ovariectomizadas en el laberinto de agua de Morris. Se observó que el mejoramiento que provoca el estradiol solo se hace aparente después de 24 horas de la administración de esta hormona. Asimismo se encontró que el mejoramiento de la memoria inducido por estradiol puede ser mantenido por al menos 10 días si se sigue administrando esta hormona.

En otro estudio similar al de Sandstrom y Williams realizado por Gibbs (2000) se analizó el efecto de un tratamiento de largo plazo de estrógenos y la combinación de estrógenos y progesterona en ratas ovariectomizadas en edad avanzada (13 meses de edad). Los resultados concuerdan con los encontrados por otros autores, ya que se observó un mejoramiento en la adquisición y retención de la memoria espacial.

Es claro el efecto de los estrógenos y progesterona en la formación y adquisición de la memoria, sin embargo sus mecanismos neuronales y hormonales no son muy conocidos. Es posible sin embargo identificar que estas hormonas pueden interactuar con dos estructuras neuronales: el hipocampo y el estriado, ya que estudios han probado que el estrógeno actúa de distinta manera en estas estructuras, mejorando, por ejemplo, el aprendizaje espacial vía el hipocampo y el aprendizaje de respuesta vía el estriado (Zurkovsky, *et al.*, 2007)

Si bien se han podido identificar algunos mecanismos de la forma en la que actúan las hormonas ováricas en los diferentes sistemas de memoria, son necesarios más estudios al respecto con diferentes paradigmas y más análisis en diferentes estructuras cerebrales para poder entender completamente el mecanismo de estas hormonas.

4.4 – RELACIÓN ENTRE EL CICLO ESTRAL Y LA ANSIEDAD.

No solamente la respuesta al estrés y el desarrollo y retención de memoria se ven afectadas por las etapas del ciclo estral, se ha observado que el ciclo estral puede modificar de cierta manera algunos trastornos de ansiedad. Por ejemplo, Frye *et al.* (2000) realizaron diversas pruebas para medir ansiedad, analgesia y actividad motora (laberinto elevado en cruz, interacción social, pruebas de entierro defensivo, campo abierto, cruzamiento horizontal, prueba de aparición o emergencia, levantamiento de cola, lamida de pata) en ratas, en cada uno de las etapas del ciclo estral, los resultados se compararon con un grupo de machos. Los resultados arrojaron que los individuos que ejecutaron mejor en la mayoría de las pruebas fueron las ratas hembras en la etapa de P; en la prueba de campo abierto las ratas hembras en P y E ejecutaron mejor que ratas en D1, D2 y macho. En la prueba de emergencia, laberinto elevado en cruz, interacción social, cruce horizontal y enterramiento defensivo las ratas en la etapa de P ejecutaron significativamente mejor que todos los demás grupos mostrando los niveles ansiolíticos mas altos en cada una de las pruebas. Por último, en las pruebas de levantamiento de cola no hubo diferencias significativas entre las etapas del ciclo ni sexo. Cabe destacar que

los niveles de progesterona y 3α , 5α - THP en sangre y en el hipocampo eran significativamente elevados en la etapa de P.

Aunado a estos resultados, Gouveia *et al.* (2004) analizaron a ratas hembras en el laberinto elevado en T, un paradigma diseñado para el estudio de la ansiedad y de la memoria, el cual se discutirá mas adelante. Los resultados arrojados por este estudio señalan que las hembras en la fase de D1, mostraron las latencias más altas en el primer ensayo de evitación o línea base, demostrando un alto nivel de ansiedad esto debido nuevamente a las hormonas presentes o ausentes en esta etapa. Consistentemente, en este mismo estudio, los individuos machos y hembras en la etapa de E, donde las hormonas están en sus niveles más bajos, mostraron el mismo patrón no solamente en el primer ensayo, sino también en los dos posteriores, demostrando un alto nivel de ansiedad comparado con los individuos en P, sin embargo no se encontraron diferencias significativas en el ensayo de escape.

En otro estudio, se analizaron ratas hembras en el laberinto elevado en cruz. Se encontraron resultados similares a los anteriores, las ratas hembras en la etapa de P pasaron más tiempo en los brazos (Marcondes *et al.*, 2001). Aunado a estos resultados, Fernández-Guasti y Picazo (1992), Frye, *et al.*, (2000) y Marcondes, *et al.*, (2001) identificaron que en la fase de P tardío del ciclo estral es donde se encuentran los menores niveles de ansiedad. Nuevamente, estos resultados se atribuye a los niveles elevados de progesterona y estrógenos (3α , 5α -THP) presentes.

La consistencia de estos resultados nos proporcionan evidencias de que las hormonas gonadales pueden tener un efecto ansiolítico sobre los individuos. Dada esta homogeneidad de resultados, varios autores (Conrad, *et al.*, 2003b; Hiroi y Neumaier, 2006) manejaron la administración de una sola de las hormonas gonadales, así como la administración conjunta de éstas en ratas ovariectomizadas y en machos, de esta manera, los resultados estarían más controlados. Un ejemplo de estos estudios es el trabajo de Hiroi y Neumaier (2006) donde se analizó el efecto de un tratamiento de estrógenos y estrógenos y progesterona a ratas ovariectomizadas en la prueba de campo

abierto encontrando que las ratas que fueron tratadas con estrógenos únicamente tuvieron un mejor desempeño en la tarea, pasando más tiempo que las ratas no tratadas con estrógenos y que los machos.

Varios autores señalan que el mecanismo de acción de estas hormonas es que influyen de alguna manera en el sistema GABAérgico (Zimmerberg y Farley, 1993) ya que se ha probado que dos metabolitos de la progesterona además de incrementar la unión de benzodiazepinas a receptores GABAérgicos, están relacionados con efectos ansiolíticos en el laberinto elevado en cruz vía sistema GABAérgico. Aunado a esto, se ha encontrado que los estrógenos y la progesterona también interactúan con el GABA incrementando los sitios de unión de las benzodiazepinas e incrementando el número de receptores GABAérgicos (Zimmerberg y Farley, 1993).

En resumen, las hormonas ováricas (estrógenos y progesterona) influyen en el organismo con una acción ansiolítica por medio de receptores GABAérgicos hipocampales (Zimmerberg y Farley, 1993). Es necesario sin embargo, comprender más a fondo los mecanismos específicos de esta respuesta, cómo influyen estas hormonas sobre la memoria y la ansiedad cuando se aplica estrés, cuáles son los neurotransmisores involucrados y en qué estructuras influyen. Más adelante se tratará con detalle los antecedentes de las cuestiones anteriores.

En el estudio del estrés y la memoria, se debe de tomar en cuenta un modelo que permita evaluar la adquisición y consolidación de esta. Asimismo, como cualquier tipo de estrés produce un tipo de trastorno de ansiedad, es vital conjuntar en un mismo paradigma estas dos variables, siendo el laberinto elevado en "T" (LET) un modelo en cual se puede medir la consolidación y adquisición de la memoria (Takahashi, *et al.*, 2005) y la respuesta a ansiedad (Vianna, *et al.*, 1994; Netto y Nunes 2004; Graeff *et al.*, 1998; Gouveia, *et al.*, 2004). En la actualidad, la mayoría de los estudios que utilizan a individuos estresados en el estudio de la memoria, no toman en cuenta a la ansiedad, siendo una parte muy importante ya que se ha visto su importante papel. De igual manera la cantidad de estudios que estudian las interacciones que pueda

tener el estrés, la memoria, la ansiedad y la DA en el estriado son muy pocos. Debido a esta falta de estudios, a la complejidad de estos mecanismos y a las implicaciones patológicas que pudiesen ocasionar, se propone el siguiente estudio el cual pretende contribuir al esclarecimiento de los mecanismos que subyacen a estas respuestas desde un punto de vista conductual y neuroquímico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto del estrés por inmovilización sobre la ejecución en el laberinto elevado en "T" (LET) a lo largo del ciclo estral y la actividad de DA en el estriado.

OBJETIVOS PARTICULARES

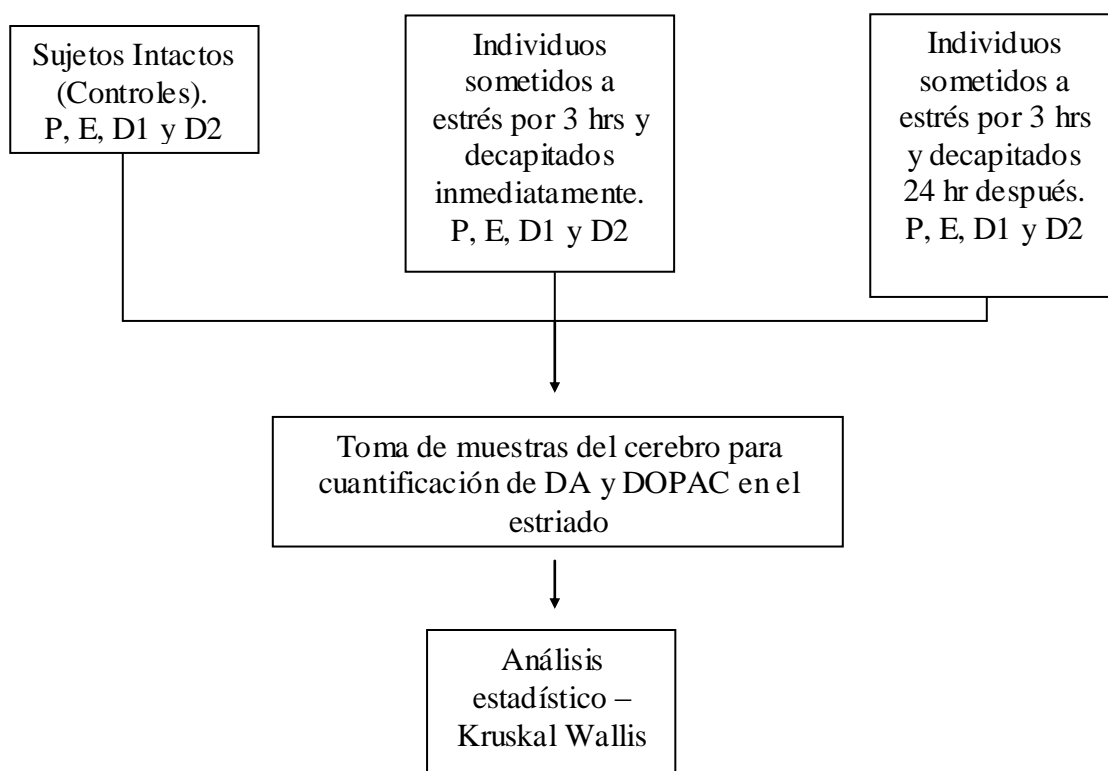
- Evaluar el efecto de la restricción (3 hrs) por inmovilización sobre la memoria y ansiedad en ratas entrenadas en el LET en cada día del ciclo estral.
- Evaluar la participación de la DA en el estriado en la memoria y ansiedad en individuos sometidos a estrés por inmovilización por 3 hrs.

MÉTODO

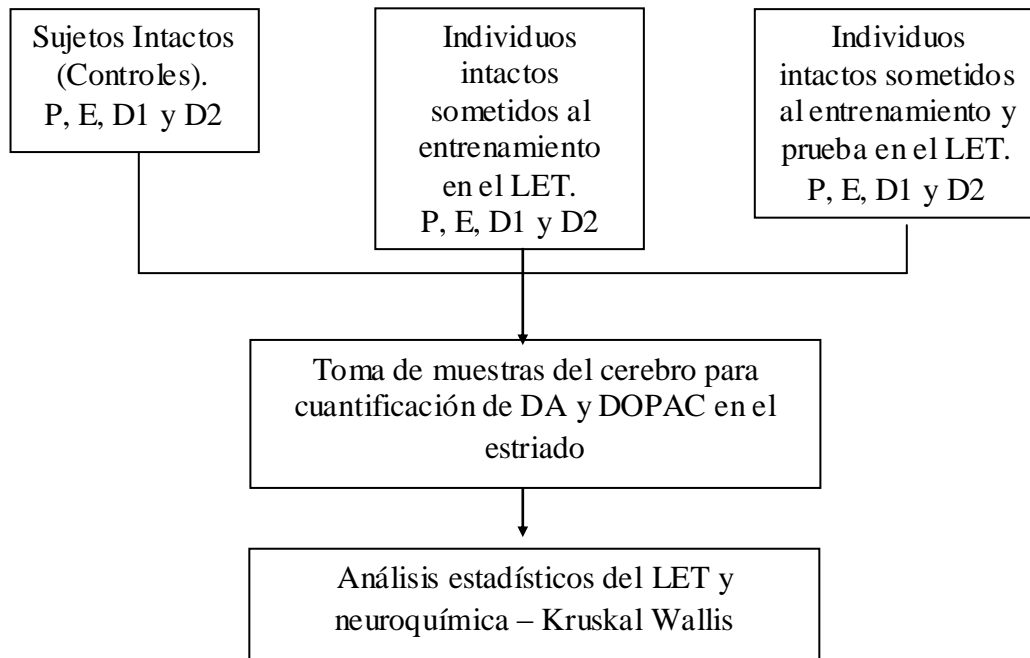
Sujetos: Se emplearon 144 ratas hembras Wistar de 75-80 días de edad, del Bioterio General de la FES Iztacala, UNAM. Los sujetos se alojaron en cajas de acrílico en grupos de cuatro, mantenidos en condiciones de luz – oscuridad (8:00-20:00 h.) con agua y alimento *ad libitum*. El ciclo estral se monitoreó diariamente durante 14 días mediante la toma de muestra de exudado vaginal entre las 12:00 – 14:00 h y de acuerdo a la citología se clasificaron en 4 grupos de 8 sujetos cada uno: P, E, D1 y D2. Los sujetos se asignaron aleatoriamente a 16 grupos, cuatro sometidos a restricción y entrenados inmediatamente, cuatro sometidos a restricción y entrenados una hora después y cuatro sin restricción y sometidos al entrenamiento y cuatro intactos (controles).

A continuación se presenta un diagrama donde se especifica los grupos utilizados en cada uno de los experimentos:

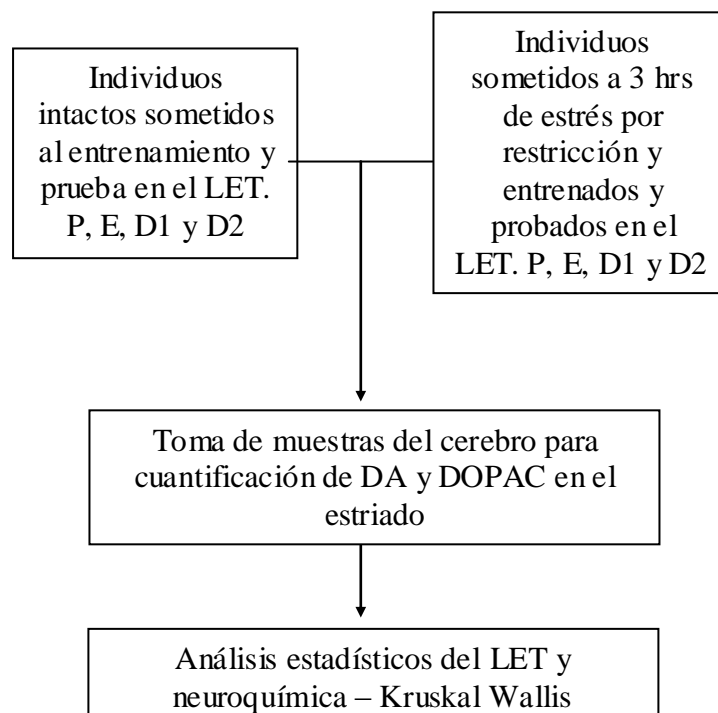
EXPERIMENTO 1: Efecto de la restricción sobre la concentración de DA, DOPAC y la ADA en el estriado dorsal a través del ciclo estral.



EXPERIMENTO 2: Efecto del entrenamiento en el laberinto elevado en T (LET) en la concentración de DA en el estriado dorsal derecho (EDD) y en la ejecución en el LET.



EXPERIMENTO 3. Efecto de la restricción sobre la memoria y ansiedad de ratas hembras sometidas a 3 hrs de estrés por restricción.



Aparatos: Se utilizó un LET hecho de PVC blanco, consistente en dos brazos abiertos de 50 x10 cm y un brazo cerrado opuesto del mismo tamaño con paredes de 40 cm de alto excepto en la entrada. Los brazos abiertos tienen una orilla de un cm del mismo material. Los brazos se extienden a partir de una plataforma central de 10x10 cm, el laberinto se encuentra elevado 50 cm del suelo. Después de cada prueba, el laberinto era limpiado con etanol (20%). Los experimentos fueron realizados entre las 12 y las 17 h. Para restringir a los individuos, fueron utilizados cilindros de acrílico con hoyos para ajustar el tamaño del cilindro.

Cromatógrafo: Para la cuantificación de DA se empleó un cromatógrafo de líquidos alta resolución (HPLC). Constituido por una bomba isocrática digital (modelo L-250 Perkin-Elmer) con una capacidad de 20 ul y una columna de fase reversa C-18 (25 cm x 4.6 mm con partícula de 10 ul de diámetro, Bioanalytical Systems, West Lafayette). La columna está acoplada a un detector electroquímico (modelo L4-C4, BAS West Lafayette, conformado de un electrodo de trabajo de carbón vidriado y un electrodo de referencia de plata/cloruro (Ag/AgCl). Los datos obtenidos fueron procesados por un integrador (Modelo 1020, Perkin Elmer).

Entrenamiento y prueba en el LET: La sesión de entrenamiento consistió de cuatro ensayos: tres de evitación, en los que los sujetos se colocaron en el brazo cerrado, y se registró el tiempo de permanencia en ese brazo, el primer ensayo se consideró como línea base (LB), y los ensayos subsecuentes de evitación (EV1 y EV2). Posteriormente se realizó un ensayo de escape (ES1) en el que cada sujeto fue colocado en el extremo del brazo abierto y se registró la latencia de escape. El criterio de permanencia, tanto en los brazos abiertos como cerrados, fue de 300 s, si el sujeto no cruzaba se daba por terminado el ensayo. Se consideró como cruce en el momento en el que el sujeto ponía las cuatro patas fuera del brazo abierto o cerrado. A las 24 hrs se realizó la prueba con un ensayo de evitación (EV3) y uno de escape (ES2) en las mismas condiciones del entrenamiento.

Restricción: Los individuos fueron manejados por el mismo experimentador durante los 14 días de la determinación citológica. Todos los sujetos fueron restringidos 3 hrs dentro de los cilindros de restricción.

Estudio neuroquímico: Inmediatamente después de la sesión de prueba, los sujetos fueron decapitados con una guillotina, el cerebro disecado y enjuagado en agua bidestilada, y congelado en nitrógeno líquido, según la técnica habitual; se realizaron cortes coronales para ubicar el estriado dorsal y tomar las muestras que se mantuvieron a menos 80° C hasta su procesamiento en HPLC para la medición de DA y su metabolito ácido 3 – 4 dihidroxifenilacético (DOPAC). Posteriormente se determinó la actividad de DA (ADA). El cálculo para la determinación de la ADA se realizó dividiendo la concentración de metabolito (DOPAC) entre la concentración de neurotransmisor (DA).

Análisis estadístico: Se realizó la prueba para datos no paramétricos Kruskal – Wallis. Se utilizó la prueba de U de Mann – Whitney para determinar diferencias entre grupos. El análisis estadístico se realizó con el programa STATISTICA `98 Edition (Copyright 1984 – 1998 by StatSoft, Inc.)

RESULTADOS

EXPERIMENTO 1: Efecto de la restricción sobre la concentración de DA, DOPAC y la ADA en el estriado dorsal a través del ciclo estral.

El objetivo principal de este experimento fue evaluar el efecto de la restricción sobre la concentración de DA, DOPAC y la ADA a través del ciclo estral. Para este experimento los sujetos en cada etapa del ciclo estral se asignaron 3 grupos: Un grupo control (C) sin restricción y decapitado inmediatamente, dos grupos sometidos a 3 hrs de restricción, uno decapitado inmediatamente después de la restricción (R0) y otro 24 hrs después (R24). Se hicieron análisis independientes para el tratamiento y el día del ciclo.

Por tratamientos en la concentración de DA (Figura. 3), se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($H = 41,62598$, $gl = 2$, $p < 0.0001$). El grupo de R0 difirió significativamente del grupo C ($p < 0.0001$), y del grupo R24 ($p < 0.0001$).

En cuanto a las etapas del ciclo, se encontraron diferencias ($H = 9.081972$, $gl = 3$, $p < 0.05$), en D1 aparecen las concentraciones mas bajas comparadas con P y E ($p < 0.05$).

El grupo de R0 La etapa de D2 es diferente ($p < 0.01$) de todas las demás etapas del ciclo estral en ese grupo.

En el grupo de R24 se encontraron diferencias en cuanto a la etapa del ciclo ($H (3, N = 36) = 11,27252$ $p = 0,0103$). La etapa de D1 es diferente únicamente de la etapa de P. No se encontraron diferencias entre las demás etapas

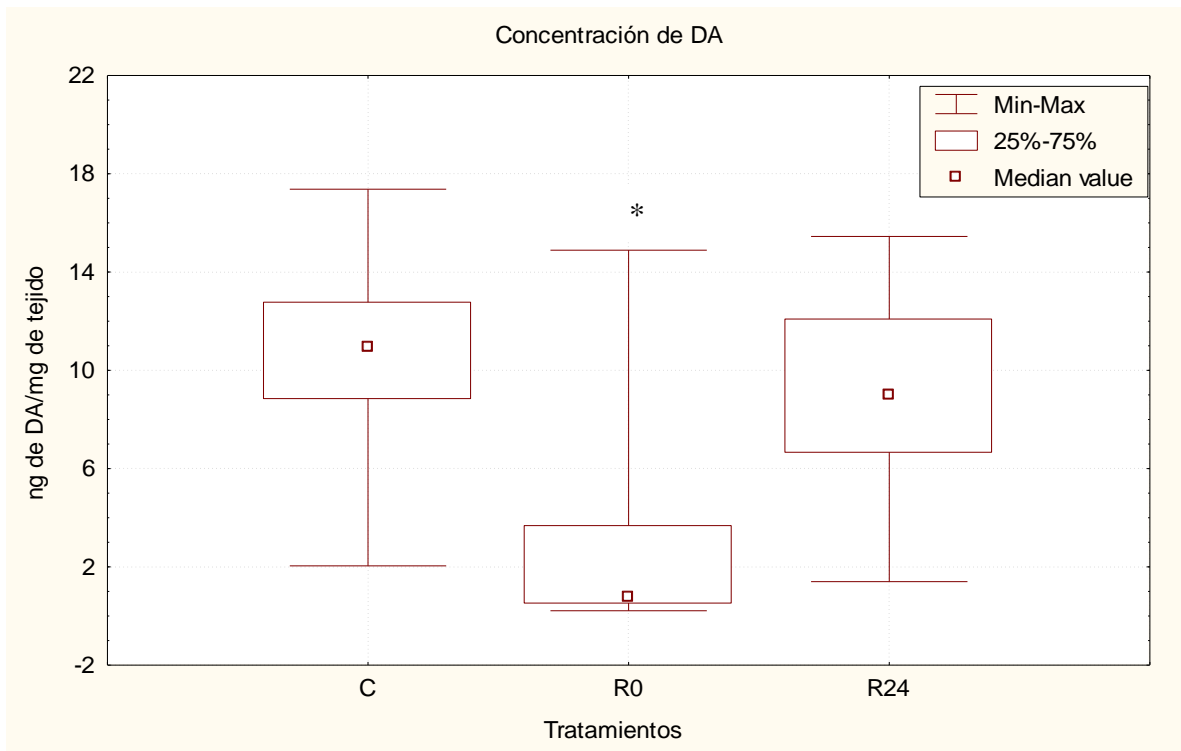


Figura 3. Medianas de las concentraciones de DA en el estriado dorsal en ratas hembras expuestas a 3 hrs de restricción. C, control; R0, restricción y sacrificadas inmediatamente después; R24, restricción y sacrificado 24 hrs después (* $p < 0.01$ vs C y R24).

En cuanto a la concentración del metabolito DOPAC (Figura. 4), se encontraron diferencias significativas por tratamiento ($H=18.35426$, $gl = 2$, $p = 0.0001$), el grupo R24 difirió de los grupos C ($p < 0.01$) y R0 ($p < 0.0001$).

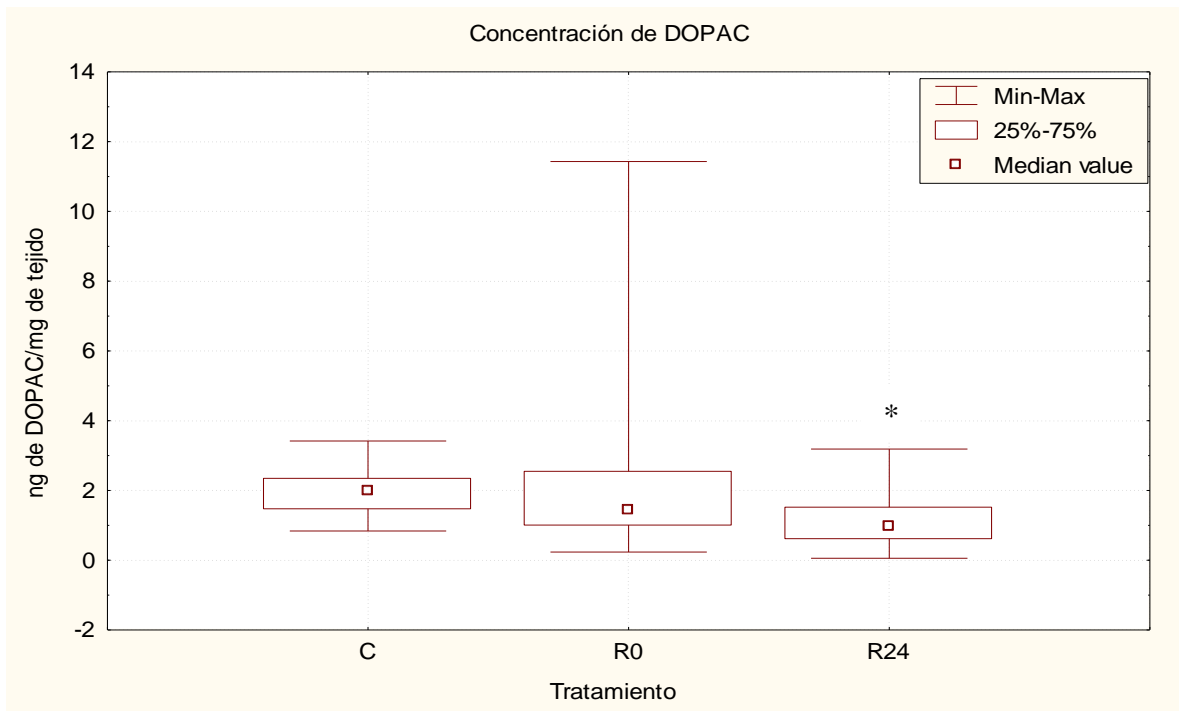


Figura 4. Medianas de las concentraciones de DOPAC en el estriado dorsal en ratas hembras expuestas a 3 hrs de restricción. C, control; R0, restricción y sacrificadas inmediatamente después; R24, restricción y sacrificado 24 hrs después (* $p < 0.01$ vs C y R0).

En la ADA no se encontraron diferencias significativas por etapas, pero si por tratamientos ($H=28.85981$, $gl = 2$, $p = 0.0001$); los grupos de R0 y R24 difirieron del grupo C ($p < 0.01$), además de que se encontraron diferencias entre los grupos R0 vs R24 ($p < 0.01$).

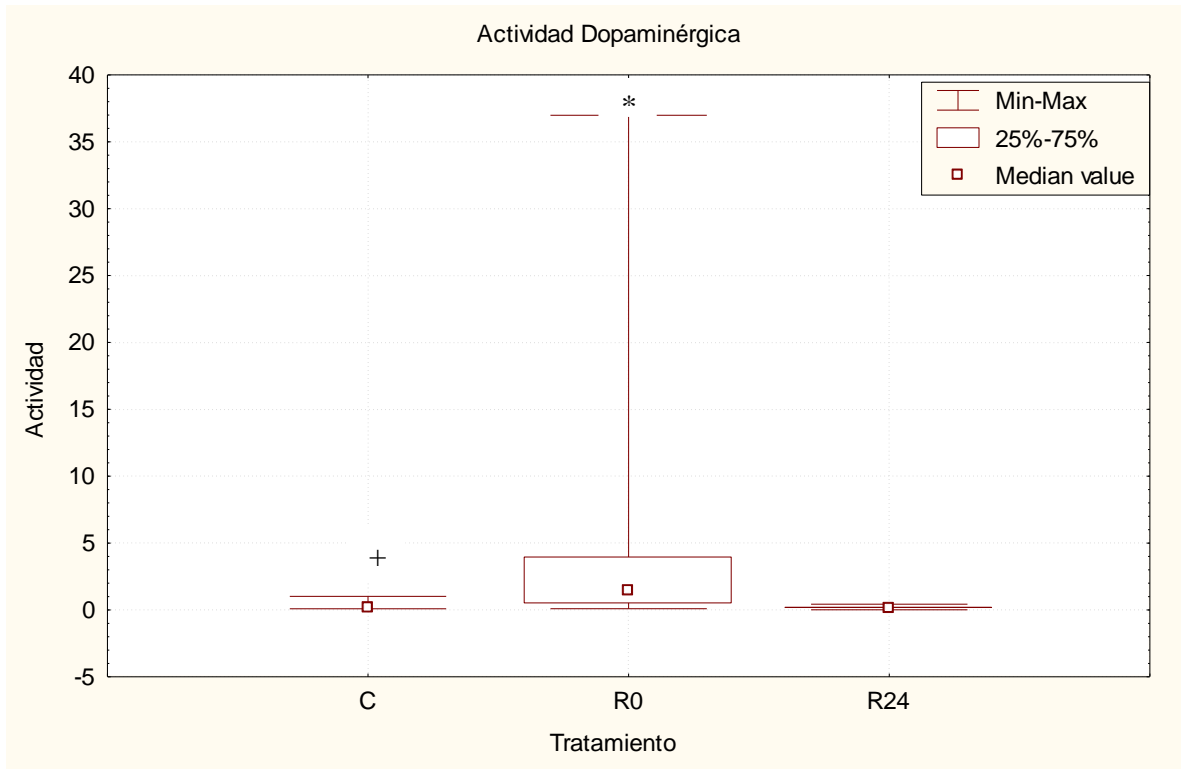


Figura 5. Medianas de la actividad de DA (DOPAC/ DA) en el estriado dorsal de rata hembra expuesta a restricción por 3 hrs. C, control; R0, restricción y sacrificadas inmediatamente después; R24, restricción y sacrificado 24 hr después (+ $p < 0.01$ vs R0 y R24; * $p < 0.01$ vs R24).

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 1

El objetivo de este primer experimento era determinar el efecto de 3 hrs de estrés por restricción, evaluado inmediatamente o 24 hrs después. Se observó que la exposición a estrés afectó el sistema dopaminérgico estriatal, encontrándose en el grupo de R0 una menor concentración de DA y la mayor actividad dopaminérgica. Estos resultados son consistentes con la bibliografía, ya que se ha observado que este tipo de estresores y con esta magnitud, pueden inducir una respuesta dopaminérgica estriatal. Por ejemplo, Carlson, *et al.* (1990) al estresar por restricción a ratas macho encontró que la exposición a 30 y 60 min de estrés fue suficiente para producir cambios en la concentración de DA estriatal. De la misma manera, Dunn y File (1982) al someter a estrés por frío (4 °C) y restricción a ratas machos por 2 hrs encontraron concentraciones y actividad dopaminérgica similares a la que nosotros encontramos en el grupo de R0. Es posible entonces que cambios tan consistentes se deban a el tipo de estresor que se está utilizando, ya que al no permitir el movimiento, es posible que específicamente el estriado sea mas afectado. Es de imaginarse que otro tipo de estresor no tenga el mismo efecto, de esta manera es necesaria la realización de más experimentos para aclarar esta pregunta.

El grupo R24 no mostró diferencias significativas contra el grupo control en la concentración de DA, sin embargo sí se encontraron diferencias en la concentración del metabolito y en la actividad. Estos resultados nos indican que el sistema dopaminérgico se recupera y vuelve a los valores basales después de 24 hrs de haberse restringido el sujeto. Estos resultados pueden corresponder entonces a una “U” invertida para la concentración de DA, encontrándose que no solo afecta el tiempo al que se someta a un individuo a estrés, si no también afecta el tiempo de “recuperación” de ese estrés ya que en el grupo R24, aunque se encontraron diferencias significativas contra el grupo C, se observa una clara tendencia en las concentraciones, por que se esperaría que en lapso mayor de tiempo, no se encontrasen diferencias entre los grupos C y R24.

En cuanto a las etapas del ciclo estral, únicamente la etapa de D2 y D1 tuvieron diferencias, de esta manera es posible deducir que la respuesta al estrés por restricción tiene efectos sobre el sistema dopaminérgico estriatal y que las hormonas ováricas presentes influyen esa respuesta. Se ha reportado que la progesterona, hormona que se encuentra en mayor cantidad en la etapa de D2, propicia un aumento en la concentración de DA y DOPAC, lo que conlleva un aumento en la ADA y que esta respuesta no afecta los receptores D2 dopaminérgicos (Morissette *et al.*, 1990), entonces es posible deducir que la respuesta observada en nuestros resultados sean efecto únicamente de la progesterona y no de los estrógenos ya que son los que se encuentran en menor concentración en estas etapas.

EXPERIMENTO 2: Efecto del entrenamiento en el laberinto elevado en T (LET) en la concentración de DA en el estriado dorsal derecho (EDD) y en la ejecución en el LET.

Los sujetos se asignaron aleatoriamente a los siguientes grupos: un grupo sometido al entrenamiento del LET (LETE) (LB, EV1, EV2 y E1) y, otro grupo al que se sometió al entrenamiento (LET) y a la prueba realizada 24 hrs después (EV3 y E2) los datos fueron comparados con el mismo grupo control del experimento 1.

En la concentración de DA (Fig. 6) no se detectaron diferencias en ninguna de las etapas del ciclo. Por otra parte se encontraron diferencias en los grupos ($H= 42.32168$, $gl = 2$, $p < .0001$), el grupo LETE difiere de los grupos C ($p<0.0001$) y LETEP ($p<0.0001$).

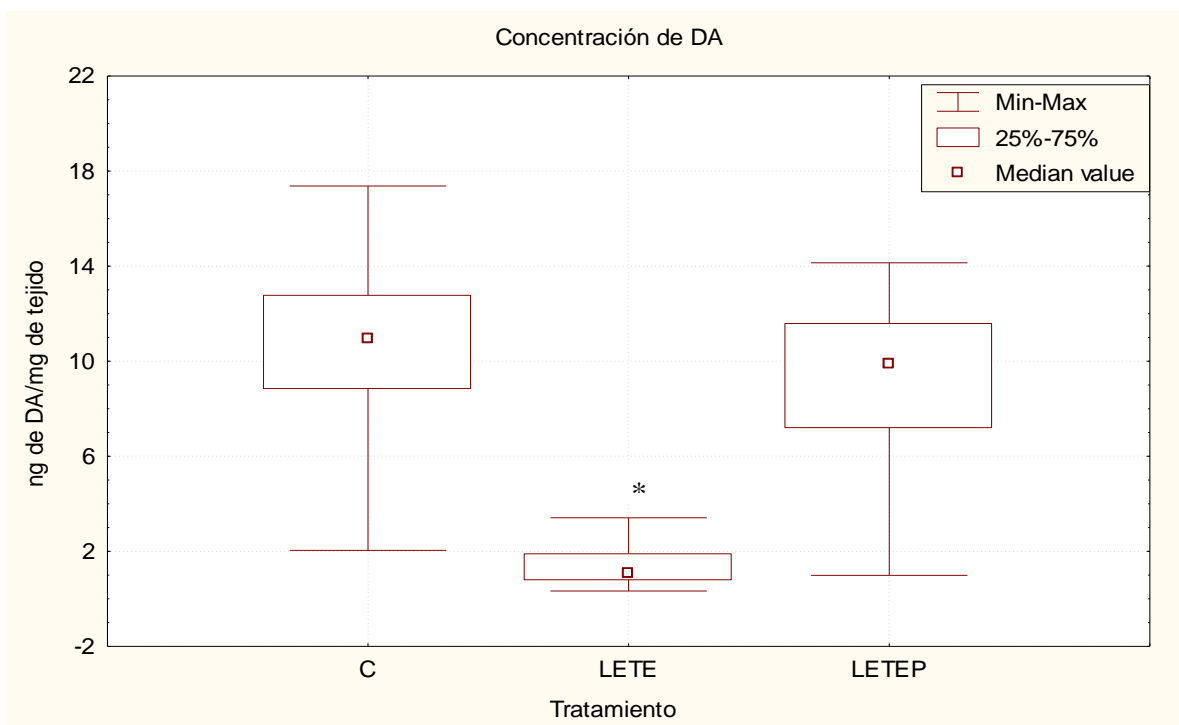


Figura 6. Medianas de las concentraciones de DA en el estriado dorsal de rata hembra expuesta al LET. C, Control, LETE, expuestos a entrenamiento en el LET, LETEP, expuestos a entrenamiento y prueba 24 hrs después en el LET (* $p<0.01$ vs C y LETEP).

Para el metabolito DOPAC (Fig. 7), se encontraron diferencias significativas por grupo ($H(2, N= 100) = 9.852512$ $p = 0.0073$). El grupo de LETEP difiere del grupo C ($p<0.01$) y del grupo LETE ($p<0.01$). No se encontraron diferencias en cuanto a las etapas del ciclo.

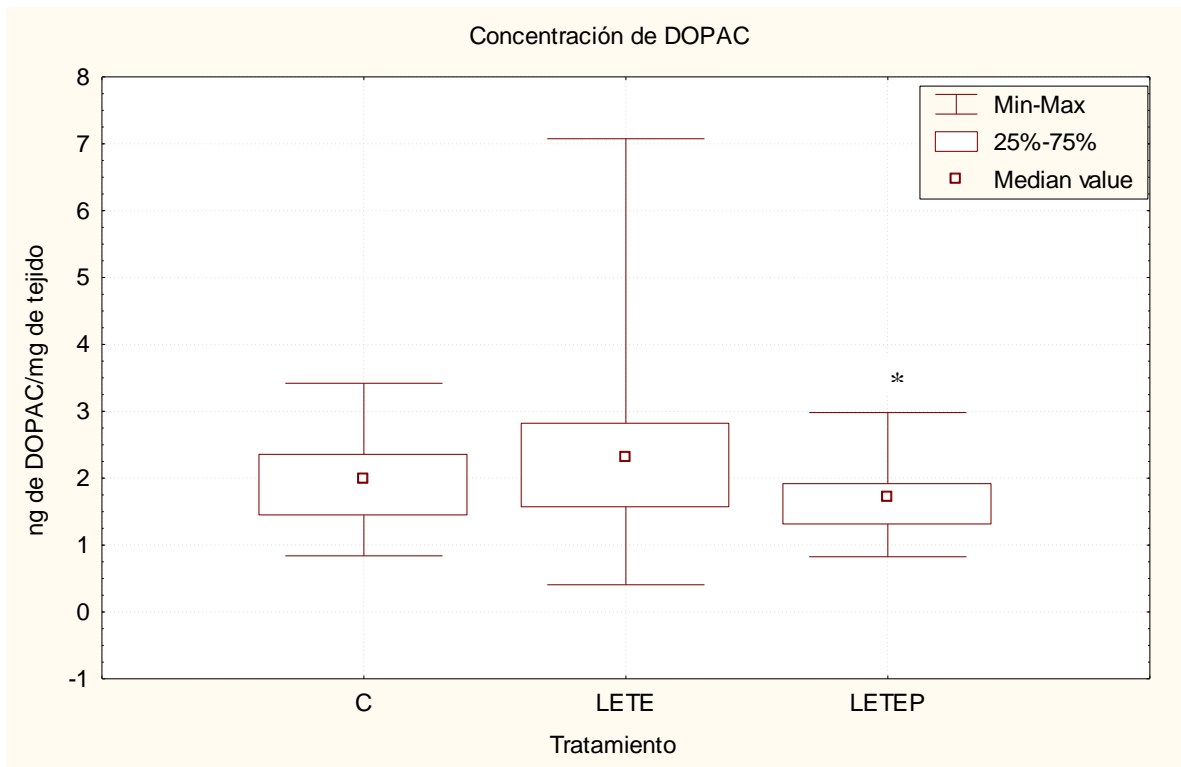


Figura 7. Medianas de las concentraciones de DOPAC en el estriado dorsal de rata hembra expuesta al LET. C, Control, LETE, expuestas a entrenamiento en el LET, LETEP, expuestas a entrenamiento y prueba 24 hrs después en el LET (* $p < 0.01$ vs C y LETE).

Para la ADA, se hallaron diferencias por grupos ($H(2, N=100) = 54.86695$, $p < 0.0001$), siendo el grupo LETE diferente de los grupos C ($p < 0.01$) y LETEP ($p < 0.01$).

No se encontraron diferencias entre las etapas.

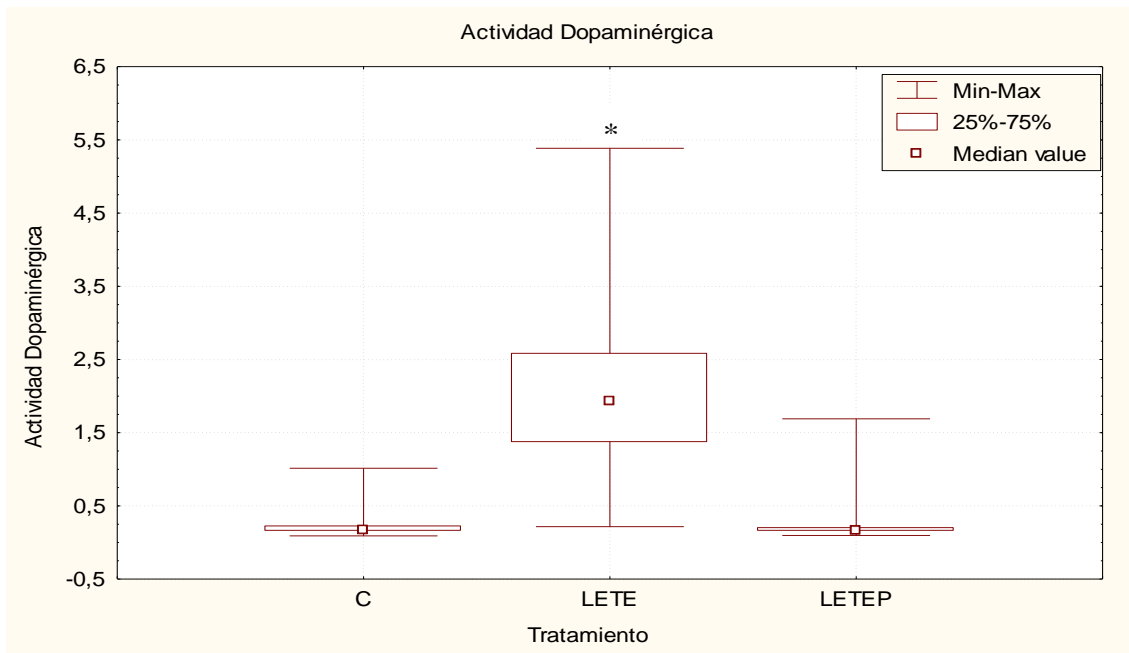


Figura 8. Medianas de la actividad de la DA (DOPAC / DA) en el estriado dorsal de rata hembra expuesta al LET. C, Control, LETE, expuestas a entrenamiento en el LET, LETEP, expuestas a entrenamiento y prueba 24 hrs después en el LET (* $p < 0.01$ vs C y LETEP).

En el análisis conductual, no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las etapas en los ensayos de LB (Fig. 9) ($H(3, N=33) = 5.745424$ $p = 0.1247$) EV1 (Fig. 10) ($H(3, N=33) = 0.6227637$ $p = 0.8912$) y EV2 (Fig. 11) ($H(3, N=33) = 2.466247$ $p = 0.4814$).

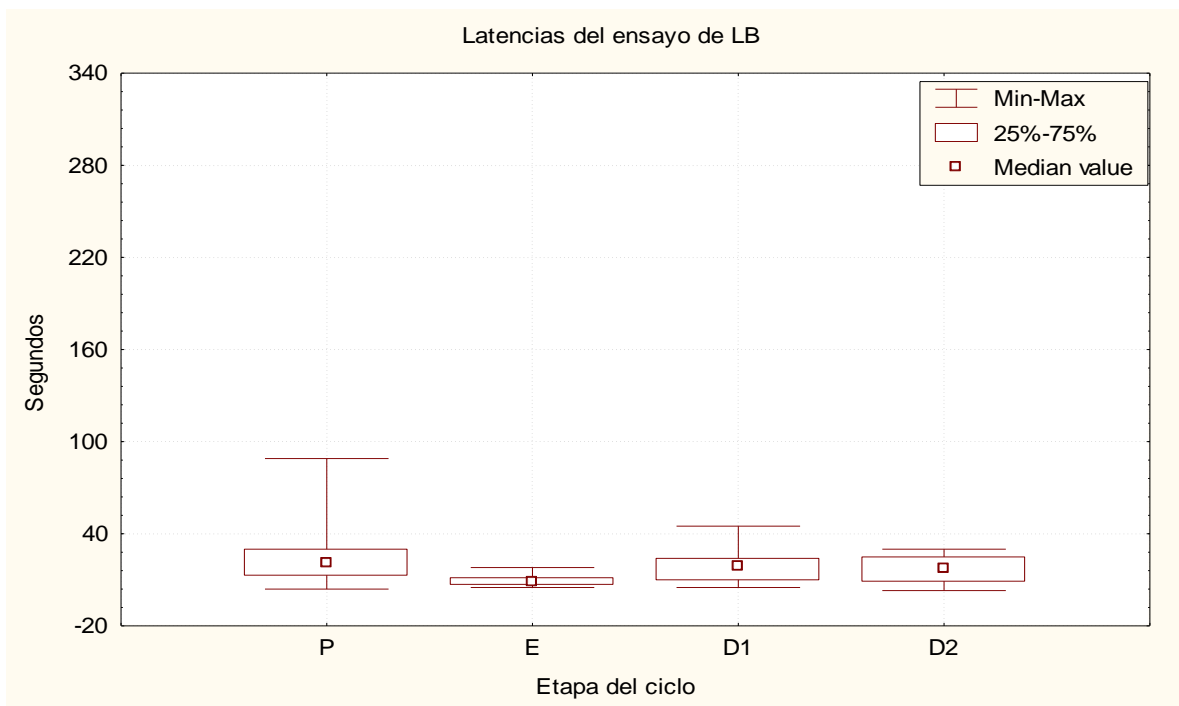


Fig. 9. Medianas de los tiempos de las latencias de LB en cada día del ciclo estral.

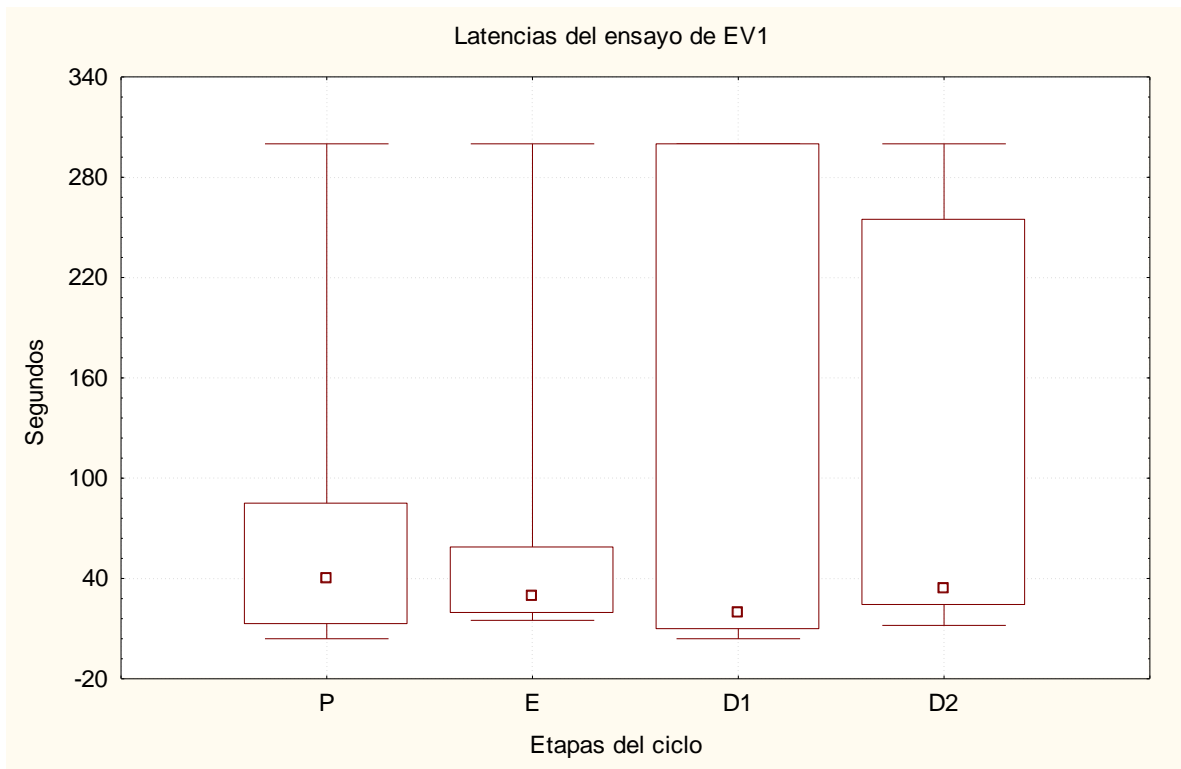


Fig. 10. Medianas de los tiempos de las latencias de EV1 en cada día del ciclo estral.

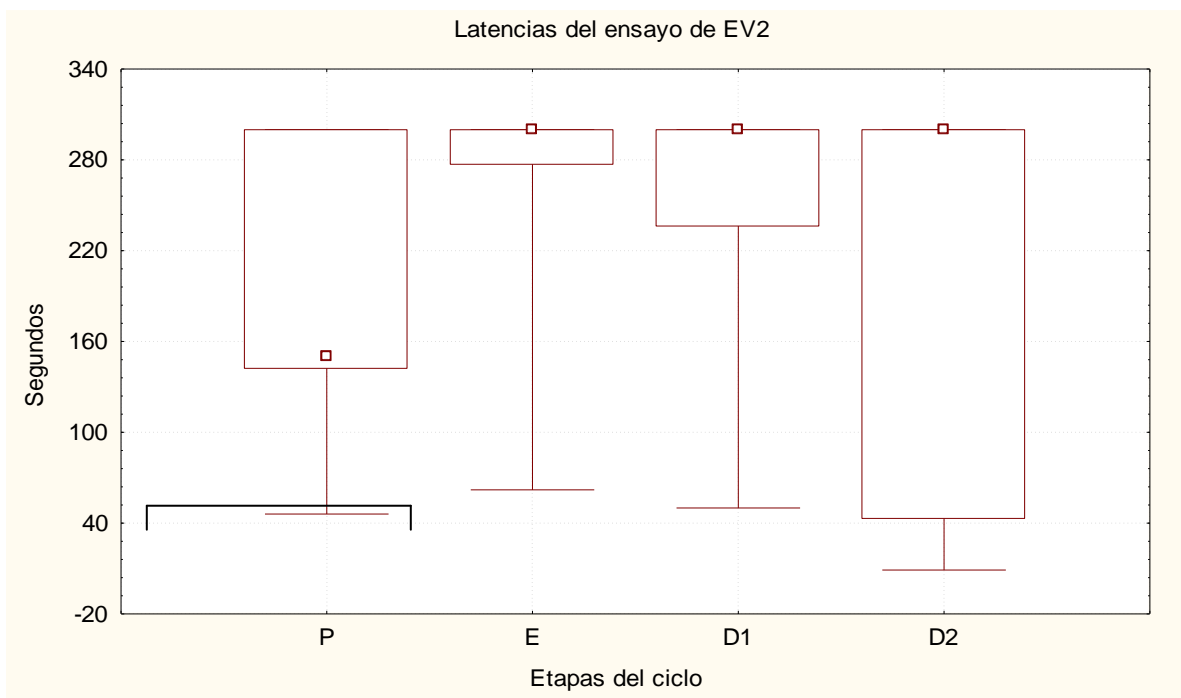


Fig. 11. Medianas de los tiempos de las latencias de EV2 en cada día del ciclo estral.

En las latencias de retención, correspondientes a EV3 (Fig. 12), se encontraron diferencias significativas entre las etapas del ciclo estral ($H(3, N=$

33) = 8.383333 $p = 0.0387$). La etapa de D2 difiere de las etapas de P ($p < 0.05$) y de E ($p < 0.01$). No hubo diferencias entre la etapa de D1.

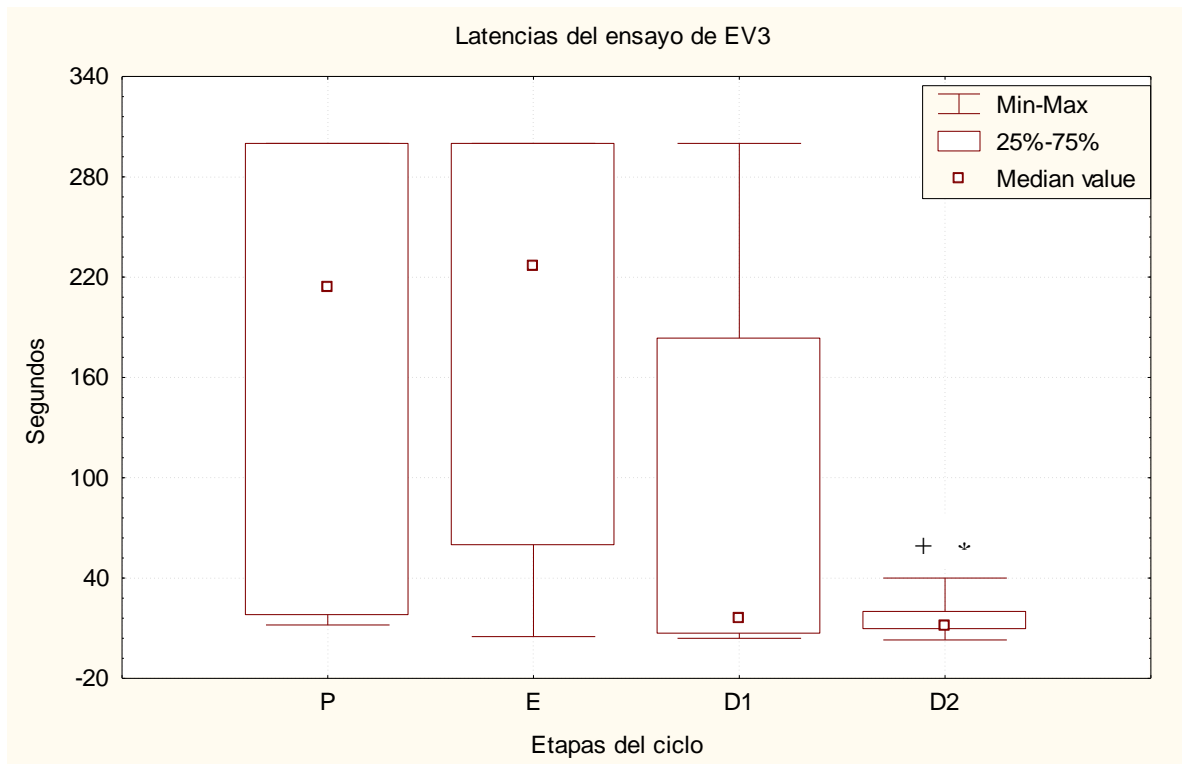


Figura 12. Medianas de las latencias de retención en cada día del ciclo estral (* $p < 0.01$ vs E; + $p < 0.05$ vs P).

Por último, no se encontraron diferencias significativas en las pruebas de ESC1 ($H(3, N=33) = 4.467907$ $p = 0.2152$) y ESC2 ($H(3, N=33) = 0.8103045$ $p = 0.8470$)

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 2.

El objetivo del experimento 2 era el ver el efecto que podría provocar el entrenamiento y prueba en el LET sobre la concentración y actividad de la DA, y a lo largo del ciclo estral. Los resultados nos muestran que el LET puede provocar una respuesta similar a la observada en el experimento 1: en el primer día la DA, DOPAC y la ADA se ven afectadas de igual manera, lo cual nos conduce a creer que el LET provoca estrés sobre los individuos, sin embargo, cuando se observan los resultados del segundo día, el día de la prueba, los individuos no presentan esa respuesta y las concentraciones vuelven a niveles basales. Al realizarse un ANOVA de dos vías para comparar ambos experimentos no se encontraron diferencias significativas entre ellos, lo cual sugiere que el sistema dopaminérgico se restablece a niveles basales 24 hrs después del estrés independientemente del tipo de estresor que se le aplique, ya sea 3 hrs de restricción o el someterse al LET.

Con respecto al ciclo estral, la etapa en la que las latencias fueron más elevadas fue la etapa de E y se encontraron diferencias significativas únicamente contra D2 en EV3. De igual manera y aunque no se encontraron diferencias significativas, la etapa de P fue también una con las mayores latencias. Estos resultados si bien concuerdan con reportes previos (Conrad, *et al.*, 2004, Conrad *et al.*, 2003a, Bowman, *et al.*, 2001), en que se señala que las ratas en P y E muestra los mejores resultados, en nuestro estudio no podemos establecer una relación entre el sistema dopaminérgico y estos resultados. Si bien nuestros resultados muestran que efectivamente las hormonas jugaron un papel importante en la formación y consolidación de la memoria, estas hormonas no tienen relación con la respuesta dopaminérgica estriatal, ya que los resultados neuroquímicos no concuerdan con ninguno de los ensayos conductuales.

En cuanto a las latencias de escape no se encontraron diferencias significativas por etapa, o por tratamiento o interacción, de esta manera podemos afirmar que los individuos no sufrieron ansiedad. Estos resultados son similares a los de Gouveia, *et al.*, (2004) donde no encontró diferencias

significativas cuando probó a ratas hembras en todos los estados del ciclo estral contra ratas machos en el LET, ninguno presentó diferencias significativas en la tarea de escape.

EXPERIMENTO 3. Efecto de la restricción sobre la memoria y ansiedad de ratas hembras sometidas a 3 hrs de estrés por restricción.

Para este experimento se comparó a un grupo de hembras que fueron entrenadas y probadas 24 hrs después en el LET contra un grupo en el cual se sometió a estrés por restricción durante 3 hrs, se entrenó en el LET, y posteriormente 24 hrs después del entrenamiento, los sujetos fueron probados en el LET y decapitados inmediatamente. Se realizó un ANOVA de Kruskal - Wallis para observar las diferencias entre los sujetos, los resultados fueron los siguientes.

Para el caso de DA (Fig. 13) se encontraron diferencias significativas por grupo ($H(1, N=62) = 10.14268, p < 0.01$).

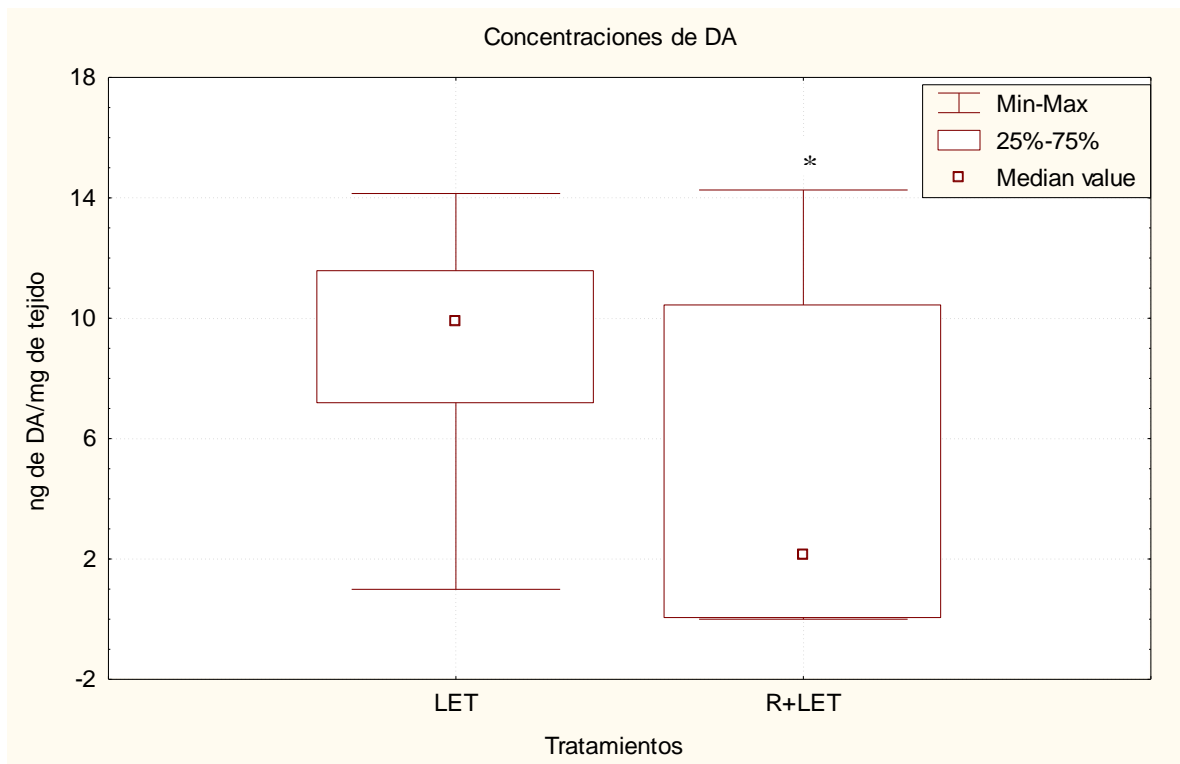


Figura 13 Medianas de las concentraciones de DA en el estriado dorsal de rata hembra expuesta a 3 hrs de restricción y al LET. LET, expuestos a entrenamiento y prueba en el LET, R+LET expuestos a 3 hrs de estrés por restricción y a entrenamiento y prueba en el LET (* $p < 0.01$ vs LET).

Por otra parte, se encontraron diferencias entre las etapas en el grupo de LET+R ($H(3, N=29) = 10,79097 p = ,0129$), teniendo que a etapa de D2 difiere

de la etapa de E ($p < 0.05$) y de D1 ($p < 0.05$). No se encontraron diferencias contra la etapa de P.

En el caso de el metabolito DOPAC (Fig. 14), se detectaron diferencias en cuanto a grupos ($H(3, N = 29) = 10.79097, p < 0.05$).

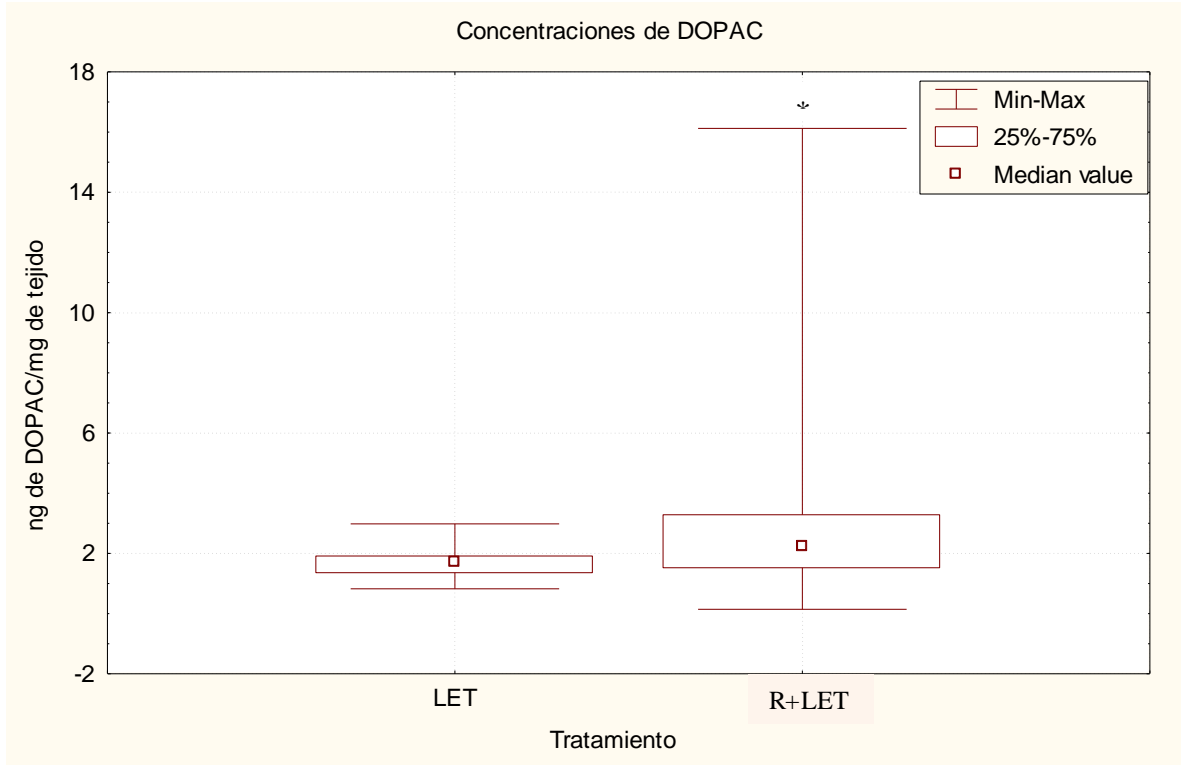


Figura 14. Medianas de las concentraciones de DOPAC en el estriado dorsal de rata hembra expuesta a 3 hrs de restricción y al LET. LET, expuestos a entrenamiento y prueba en el LET, R+LET expuestos a 3 hrs de estrés por restricción y a entrenamiento y prueba en el LET (* $p < 0.05$ vs LET).

Para las etapas, no se encontraron diferencias significativas entre ninguna de las etapas de ambos grupos ($H(3, N = 29) = 5,009685, p = 0.1711$; $H(3, N = 33) = 1.854132, p = 0.6032$).

Por último, para el caso de la ADA (Fig. 15) no se encontraron diferencias significativas por etapa en ambos grupos [$H(3, N = 33) = 1.276592, p = 0.7347$; $H(3, N = 33) = 1.276592, p = 0.7347$], ni entre los grupos ($H(1, N = 62) = 0.1009720, p = 0.7507$), sin embargo, se sigue manteniendo una tendencia no significativa de la actividad en la etapa de D2 del tratamiento de R+LET contra todas las demás etapas, en especial contra la etapa de P del tratamiento de

R+LET, que fue la etapa con la menor actividad, contrario a la etapa de D2, que superó a todas las demás etapas.

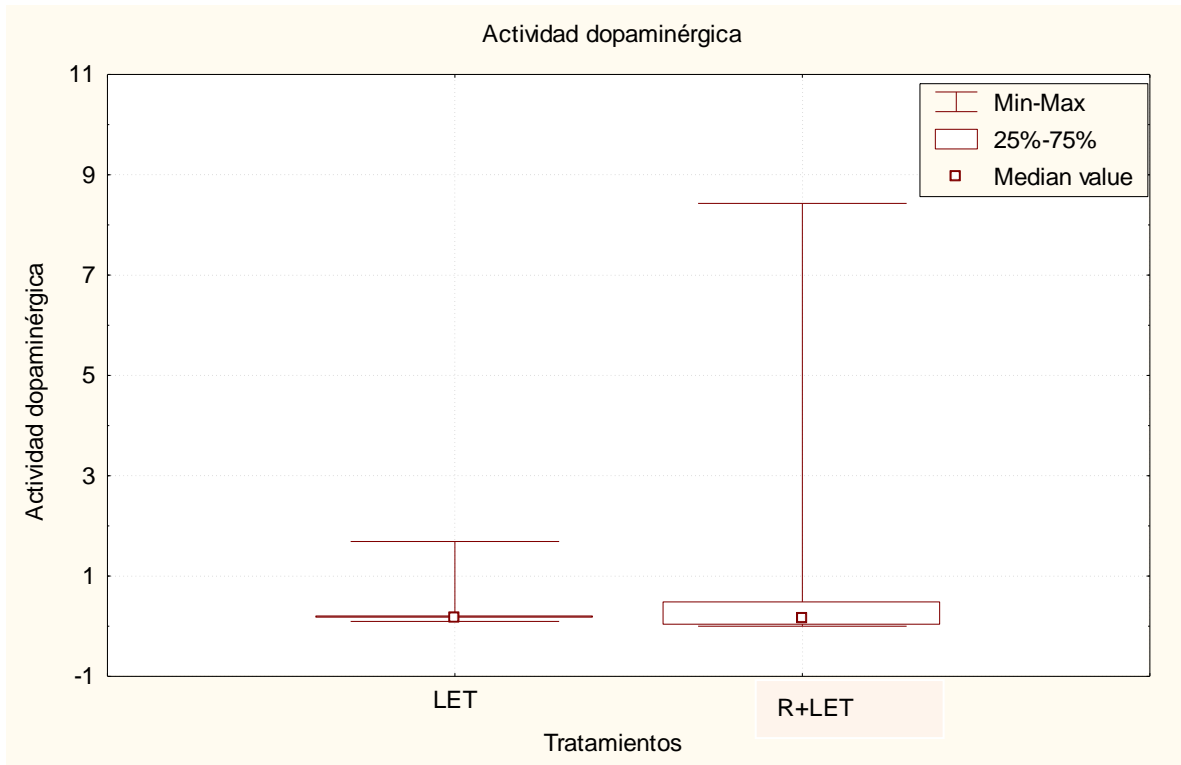


Figura 15. Medianas de la actividad de DA (DOPAC / DA) en el estriado dorsal de rata hembra expuesta a 3 hrs de restricción y al LET. LET, expuestos a entrenamiento y prueba en el LET, R+LET expuestos a 3 hrs de estrés por restricción y a entrenamiento y prueba en el LET.

En el estudio conductual se comparó la ejecución de los grupos entrenados y probados en el LET sin restricción y de los grupos expuestos a 3 hrs de restricción antes del entrenamiento y de la prueba en el LET (R+LET). No se encontraron diferencias significativas entre grupos en los ensayos de LB ($H(1, N=61) = 3.594007, p = 0.0580$) y EV1 ($H(1, N=61) = 3.594007, p = 0.0580$), sin embargo, sí se encontraron diferencias en el ensayo de EV2 ($H(1, N=61) = 14.77954, p < 0.0001$) (Fig. 16).

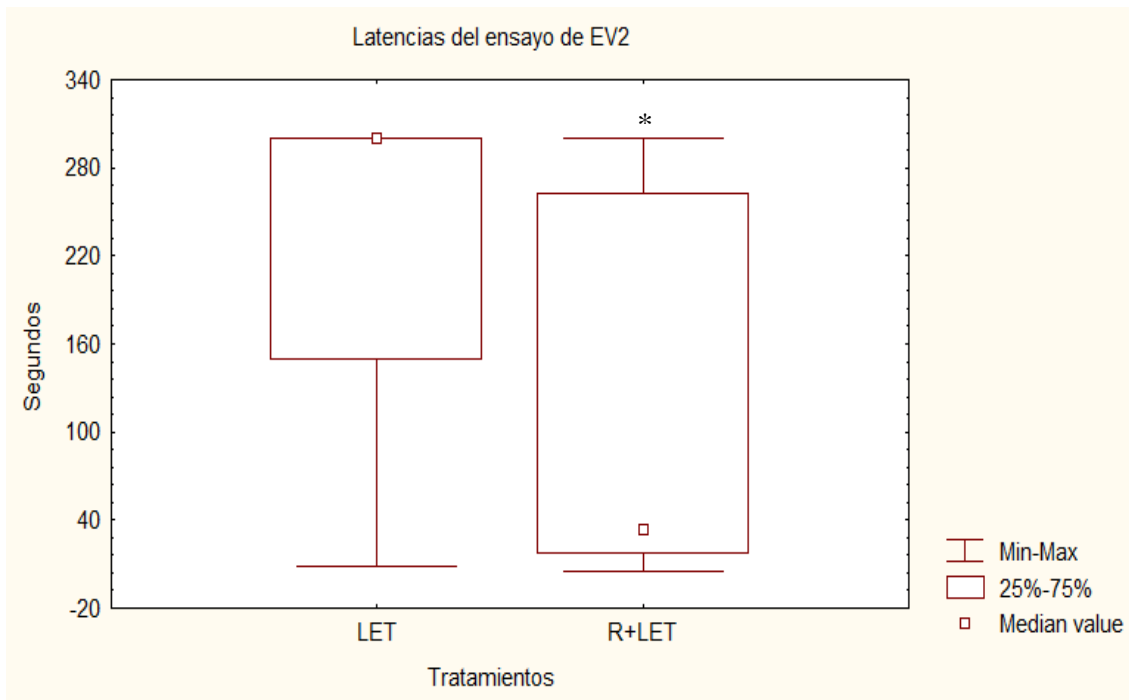


Figura 16. Medianas de las latencias en el ensayo de EV2 de rata hembra expuesta a 3 hrs de restricción y al LET. LET, expuestos a entrenamiento y prueba en el LET, R+LET expuestos a 3 hrs de estrés por restricción y a entrenamiento y prueba en el LET (* $p < 0.01$ vs LET).

En cuanto a las etapas, en el ensayo de LB se encontraron diferencias (H (7, N= 61) = 15.15479 $p < 0.05$), la etapa de P del grupo LET difirió de las etapas de E ($p < 0.05$) y D2 ($p < 0.01$) del grupo de R+LET.

En el ensayo de EV1 no se encontraron diferencias entre etapas (H (7, N= 61) = 6.388519, $p = 0.4952$).

En el ensayo de EV2 hubo diferencias significativas (H (7, N= 61) = 19.48887, $p < 0.01$), siendo la etapa de P del grupo LET la que difiere de las etapas de P ($p < 0.01$) y D2 ($p < 0.01$) del grupo de R+LET. Igualmente la etapa de E del grupo LET presenta las mismas diferencias: P ($p < 0.01$) y D2 ($p < 0.01$).

En cuanto al ensayo de ESC1 (Fig. 17), únicamente se encontraron diferencias entre grupos (H (1, N= 61) = 10.42878 $p = 0.01$).

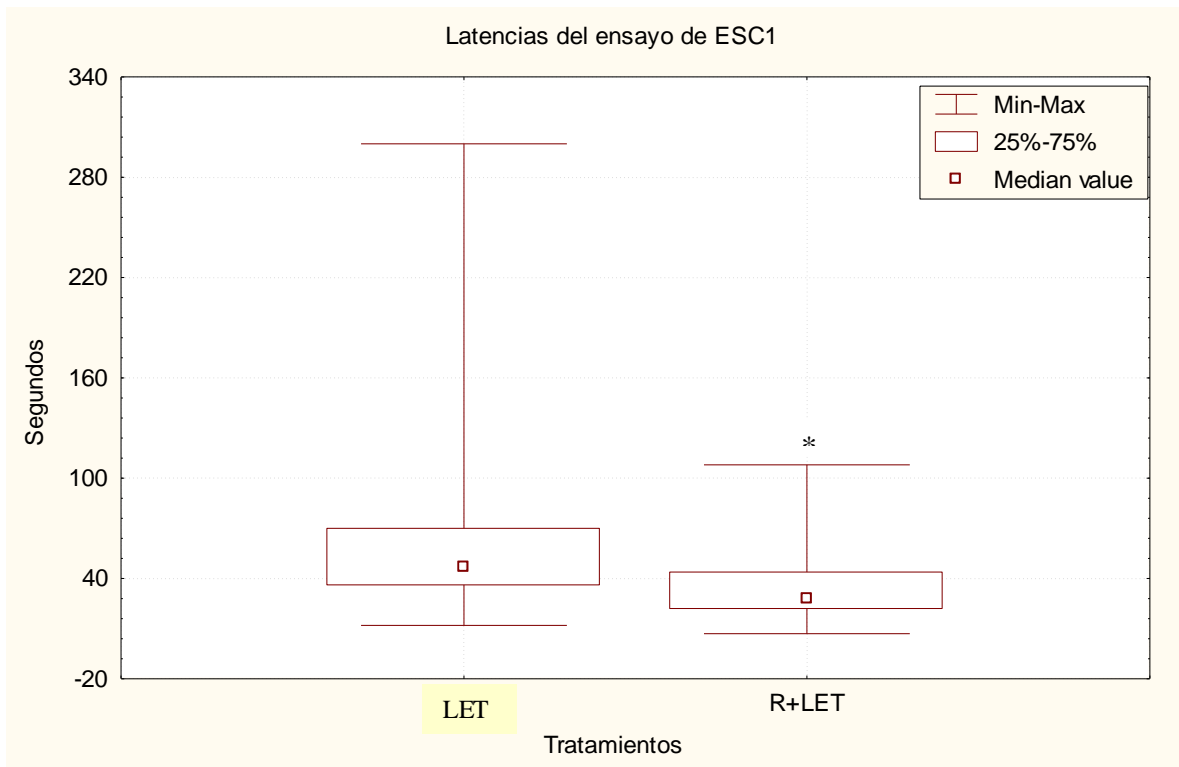


Figura 17. Medianas de las latencias en el ensayo de ESC1 de rata hembra expuesta a 3 hrs de restricción y al LET. LET, expuestos a entrenamiento y prueba en el LET, R+LET expuestos a 3 hrs de estrés por restricción y a entrenamiento y prueba en el LET (* $p < 0.01$ vs LET).

No se presentaron diferencias entre etapas del grupo LET ($H(3, N=32) = 3.197587$ $p = 0.3622$) y el grupo R+LET ($H(3, N=29) = 4.878330$ $p = 0.1809$).

En cuanto al ensayo de EV3, referente a la retención de memoria, no se encontraron diferencias significativas entre grupos ($H(3, N=29) = 4.878330$ $p = 0.1809$).

En cuanto a las etapas del ciclo (Fig. 18), se encontraron diferencias en el grupo LET ($H(3, N=32) = 9.140526$ $p < 0.05$). La etapa que difirió fue la de D2 contra la etapa de P ($p < 0.05$) y E ($p < 0.05$). No se encontraron diferencias por etapa en el grupo de R+LET ($H(3, N=29) = 0.8904469$, $p = 0.8277$).

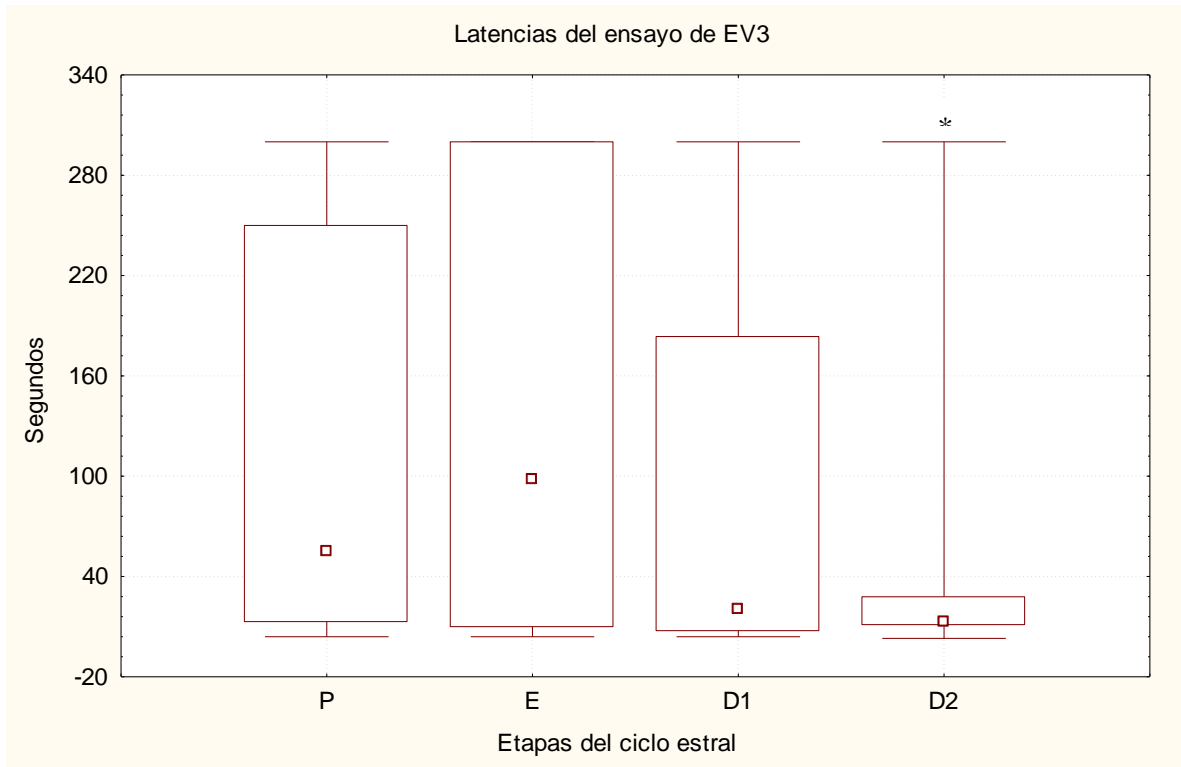


Figura 18. Medianas de las latencias del ensayo de EV3 de rata hembra expuesta a 3 hrs de restricción y al LET. LET, expuestos a entrenamiento y prueba en el LET, R+LET expuestos a 3 hrs de estrés por restricción y a entrenamiento y prueba en el LET (* $p < 0.05$ vs E y P).

Por último, en cuanto al ensayo de ESC2 no se encontró ninguna diferencia entre grupos ($H(1, N=61) = ,0013023$ $p = ,9712$) o por etapas ($H(3, N=32) = ,3192431$ $p = ,9564$) ($H(3, N=29) = 4,602499$ $p = ,2034$).

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 3

El objetivo de este experimento era ver cómo el estrés afecta la memoria y ansiedad a través del ciclo estral y si el sistema dopaminérgico estriatal estaba involucrado con esa respuesta. Los resultados nos indican fenómenos importantes. El primero es que la restricción junto con la prueba en el LET sí afectan de manera directa a los individuos, ya que el tratamiento de R+LET es el que resulta con las menores latencias en el ensayo de EV2 el día del entrenamiento. Esto indica a una menor o deficiente curva de aprendizaje por parte de estos individuos. Los resultados concuerdan con los encontrados con Klenerová, *et al.*, (2002; 2003) y Stillman, *et al.*, (1998), los cuales encontraron curvas de aprendizaje menores en individuos sometidos a restricción.

Por otro lado, en el ensayo de EV3, referente a la retención de la memoria, no se encontraron diferencias ni entre los grupos, ni en ninguna de las etapas, estos resultados nos indican que el efecto conjunto del estrés y de la exposición al laberinto no tienen efectos sobre la retención de la memoria. Estos resultados no concuerdan con nuestra hipótesis de que el estrés afectaría únicamente a los individuos con niveles hormonales inferiores (D1 y D2 principalmente), por el contrario, todas las etapas del grupo presentaron semejanzas con el grupo control. Varios autores han encontrado diferentes respuestas cuando se someten a estrés a los organismos, por ejemplo, Farr *et al.*, (1995) al probar a ratas hembras para evitar un choque eléctrico en el LET encontró que las ratas en D2 tuvieron mejores resultados que las demás etapas del ciclo estral. Contrario a estos resultados, Conrad *et al.*, (2004) encontró que cuando se sometía a ratas macho y ratas hembra a estrés por restricción durante una hora, los machos estresados mostraron los peores resultados en el laberinto en Y que las ratas hembras estresadas. Asimismo, dentro de la respuesta del estrés sobre la etapa del ciclo estral, las ratas en P mostraron estadísticamente la mejor ejecución que las etapas de D1 y D2. Por otra parte, en el ensayo de EV3 del experimento 2 se observa que la etapa de D2 fue la que tubo las menores latencias comparada con las etapas de P y E, sin embargo, esto no se hace aparente en el grupo de R+LET. De estos resultados nosotros podemos afirmar que el tipo de estresor, el tiempo al que

se somete a los individuos a estrés y el tipo de tarea influyeron sobre nuestros resultados, ya que nosotros no observamos la hipótesis planteada de que los individuos en P tendrían un aprendizaje y retención de la memoria similar a los individuos intactos. Debido a estos resultados, hay que tomar en cuenta la participación de otros sistemas hormonales y no solo las hormonas gonadales, y sobre todo, el tiempo de exposición al estrés. Posiblemente el efecto de las hormonas gonadales sobre la memoria en individuos estresados por restricción solo se hace aparente por periodos muy cortos de tiempo de estrés, por ejemplo 1 hora (Conrad *et al.*, 2004) o periodos muy largos (Bowman, 2001). Cabe señalar la participación de otras hormonas que puedan influir en esta respuesta, tal como la CRF o la corticosterona, ya que se ha observado que por periodos de 30 a 60 min de estrés, los niveles de corticosterona están muy elevados y a más de tres hrs los niveles empiezan a descender a concentraciones basales (Conrad *et al.*, 2004), entonces es posible pensar que la corticosterona pueda afectar la retención de la memoria, ya que como se plantea, los niveles más elevados de esta hormona se encuentran en lapsos de una a 3 hrs de estrés por restricción. Son necesarios más estudios para aclarar esta cuestión.

En cuanto a la concentración de DA y a la ADA, se demuestra que efectivamente el sistema dopaminérgico está influido directamente por el estrés, ya que se encontraron diferencias significativas por tratamiento en la concentración de DA (experimento 1 y 3). Estos resultados concuerdan con la bibliografía indicando que el sistema dopaminérgico estriatal es sensible al estrés por restricción (Chrapusta, *et al.*, 1997) aumentando la ADA en el estriado dorsal (Robbins y Everitt, *et al.*, 1992).

Otro fenómeno importante que hay que resaltar es que los resultados en el experimento 3 nos demuestran que solo la etapa de D2 del grupo sometido a restricción presenta diferencias en la DA y DOPAC y una clara tendencia en la ADA. Esto indica que si bien el estrés afecta la respuesta dopaminérgica estriatal, consiguiendo menores concentraciones de DA y mayor concentración de DOPAC, esta respuesta solo es apreciable en la etapa de D2. Estos resultados son muy similares a los encontrados en el experimento 1, en el cual

solamente la etapa de D2 mostró diferencias. Estas diferencias pueden indicar que las hormonas gonadales (estrógenos y progesterona) pueden modular en cierta medida la respuesta dopaminérgica en el estriado dorsal, ya que en la etapa de D2, la cual cuenta con la menor concentración de estas hormonas, la ADA es muy elevada aunque no se encuentren diferencias significativas. Se ha reportado que la dopamina es afectada por el estrés con una mayor ADA (Robbins y Everitt, *et al.*, 1992) sin embargo no hay estudios sobre cómo las hormonas gonadales afectan el sistema dopaminérgico durante el estrés, por lo cual, no es posible comparar nuestro estudio.

Cabe señalar que no se encontró relación directa entre el estudio conductual y el estudio neuroquímico. Por una parte el estudio conductual indica que no hay diferencias entre ninguna de las etapas (EV3), y por la otra el estudio neuroquímico encuentra diferencias en la etapa de D2. Esta inconsistencia en estos resultados nos indica que la respuesta que produce el estrés sobre el sistema dopaminérgico estriatal no influye en la respuesta de este mismo sistema en la ejecución en el LET. Son necesarios más estudios para vislumbrar si efectivamente el sistema dopaminérgico estriatal no participa en la retención de la memoria usando diferentes paradigmas.

En cuanto a la prueba de ESC2 no se encontraron diferencias entre los individuos, únicamente en la prueba de ESC1. Esto sugiere que el estrés por restricción produce niveles de ansiedad significativamente diferentes únicamente después del estímulo estresor, y no 24 horas después. Esto sugiere que los individuos tienen habituación a la prueba del LET. Asimismo, se ha hipotetizado que el estrógeno y la progesterona actúa sobre los receptores D2 y D1 dopaminérgicos del estriado inhibiendo el sistema GABAérgico. Al sistema GABAérgico se le reconoce como el efector de la respuesta de ansiedad en el hipocampo, entonces es de imaginarse que estos receptores presentes en el estriado no participen en la respuesta de ansiedad y tengan alguna otra función.

CONCLUSIONES

- 3 horas de estrés por restricción y el entrenamiento y ejecución en el LET deteriora el aprendizaje.
- El estrés afecta el sistema dopaminérgico estriatal descendiendo las concentraciones de DA y DOPAC.
- El estrés por 3 horas por restricción y el entrenamiento y ejecución en el LET no afectan la retención de la memoria.
- El estrés por 3 horas por restricción y el entrenamiento y ejecución en el LET solamente afectó a los individuos en la etapa de P.
- No hay relación entre el sistema dopaminérgico estriatal y la el estudio conductual cuando se someten los individuos a estrés por restricción por 3 horas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bazzet T. J. y Becker J. B. (1994) Sex differences in the rapid and acute effects of estrogen on striatal D₂ dopamine receptor binding. *Brain Research*. 637. 163 – 172.
- Becker, B. J. (1999) Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 64. 803-812.
- Beiko, J., Lander, R., Hampson, E., Boon, F. y Cain (2004) Contribution of sex differences in the acute stress response to sex differences in water maze performance in the rat. *Behavioural Brain Research*. 151. 239–253.
- Bowman E. R., Ferguson, D. & Luine, V., N. (2002) Effects of chronic restraint stress and estradiol on open field activity, spatial memory, and monoaminergic neurotransmitters in ovariectomized rats. *Neuroscience*. 113. 401-410.
- Bowman E. R., Zrull M. C. y Luine V. N. (2001) Chronic restraint stress enhances radial arm maze performance in female rats. *Brain Research*. 904. 279-289.
- Brandao M.L., Troncoso A. C., De Souza S. M. A. y Huston J. P. (2003) The relevance of neuronal substrates of defense in the midbrain tectum to anxiety and stress: empirical and conceptual considerations. *European Journal of Pharmacology*. 463. 225 – 233.
- Brose N., O'Neill R. D., Boutelle M. G., Anderson S. M. y Fillenz M. (1987) Effects of an anxiogenic benzodiazepine receptor ligand on motor activity and dopamine release in nucleus accumbens and striatum in the rat. *Journal of Neuroscience*. 7. 2917-2926.
- Cabib S, Kempf E, Schleef C, Mele A, Puglisi-Allegra S. (1988) Different effects of acute and chronic stress on two dopamine-mediated behaviors in the mouse. *Physiology & Behavior*. 43. 223 – 227.
- Caleb, M.; Adler, M.D., Igor Elman, M.D., Neil Weisenfeld, B.S.E., Lisa Kestler, B.S., David Pickar, M.D., and Alan Breier, M.D. (2000) Effects of Acute Metabolic Stress on Striatal Dopamine Release in Healthy Volunteers. *Neuropsychopharmacology*. 22. 545 – 550.

-
- Carlson J. N., Fitzgerald L. W., Keller R. W. y Glick S. D. (1990) Side and region dependent changes in dopamine activation with various durations of restraint stress. *Brain Research*. 550. 313 – 318.
 - Cenci, M. A., Kalen, P., Mardel, R. J., Bjorklund, A. (1998) Regional differences in the regulation of dopamine and noradrenaline release in medial frontal cortex, nucleus accumbens and caudated putamen: a microdialysis study in the rat. *Brain Research*. 581. 217 – 228.
 - Chrapusta SJ, Wyatt RJ, Masserano JM. (1997) Effects of single and repeated footshock on Dopamine release and metabolism in the brains of Fischer rats. *Journal of Neurochemistry*. 68. 2024–2031.
 - Clement Y. y Chapouthier G. (1998) Biological bases of anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 22. 623 – 633.
 - Conrad D. C., Grote K. A., Hobbs R. J. Ferayorni A. (2003a) Sex differences in spatial and non-spatial Y-maze performance after chronic stress. *Neurobiology of Learning and Memory*. 79. 32–40.
 - Conrad D. C., Lupien, S. J. y McEwen, B. S. (2003b) Short for a Bimodal Role for Type II Adrenal Steroid Receptors in Spatial Memory. *Neurobiology of Learning and Memory*. 72. 39–46.
 - Conrad D. C., Jackson J. L., Wiczorek L., Baran S. E., Harman J. S., Wright R. L. & Korol D. L. (2004) Acute stress impairs spatial memory in male but not female rats: influence of estrous cycle. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 78. 569-579.
 - Colombo P.J., Brightwell J.J. y Countryman R.A. (2003) Cognitive strategy-specific increases in phosphorylated cAMP response element-binding protein and c-Fos in the hippocampus and dorsal striatum. *Journal of neuroscience*. 15. 3547 – 3554.
 - Das A., Rai D., Dikshit M., Palit G. y Nath C. (2005) Nature of stress: Differential effects on brain acetylcholinesterase activity and memory in rats. *Life Sciences*. 77. 2299 – 2311.
 - Dunn A. J. y File S. E. (1983) Cold restraint alters dopamine metabolism in frontal cortex, nucleus accumbens and neostriatum. *Physiology & Behavior*. 31. 511 – 513.

-
- Escobar A, Gómez G. B. (2006) Estrés y memoria. *Revista Mexicana de Neurociencias*. 7. 8 – 14.
 - Featherstone R. E. y McDonald R. J. (2005) Lesions of the dorsolateral or dorsomedial striatum impair performance of a previously acquired simple discrimination task. *Neurobiology of Learning and Memory*. 84. 159-167.
 - Fernández-Guasti, A & Picazo, O. (1992) Changes in burying behavior during the estrous cycle: effect of estrogen and progesterone. *Psychoneuroendocrinology*. Vol 17. 6. 681-689.
 - Figueiredo, H. F., Charles M. D. & Herman P. J. (2002) Stress activation of cortex and hippocampus is modulated by sex and stage of estrus. *Endocrinology*. 143. 2534-2540.
 - Frye C. A., Petralia S. M., Rhodes M. E. (2000) Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3 α , 5 α – THP. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 67. 587-596.
 - Giardino L., Zanni M., Pozza M., Bettelli C. y Covelli V. (1998) Dopamine receptors in the striatum of rats exposed to repeated restraint stress and alprazolam treatment. *European Journal of Pharmacology*. 5. 143-147.
 - Gibbs R.B. (2000) Long-term treatment with estrogen and progesterone enhances acquisition of a spatial memory task by ovariectomized aged rats. *Neurobiology of Aging*. 21. 107 – 116.
 - Gómez G y Escobar A, (2002) La neuroanatomía del estrés. *Revista Mexicana de Neurociencias*. 3: 154 – 158.
 - Gouirand, A. y Matuszewich, L. (2005) The effects of chronic unpredictable stress on male rats in the water maze. *Physiology & Behavior*. 86. 21 – 31.
 - Gouveia Jr. A., Dos Santos, D. U., Felisbino E. F., Afonseca L. T., Antunes G. & Morato S. (2004) Influence of the estrous cycle on the behavior of rats in the elevated T-maze. *Behavioural Processes*. 37. 167-171.

-
- Graeff F. G., Netto F. C., Zangrossi H. Jr. (1998) The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neurosciences and Biobehavioral Reviews*. 23. 237-246.
 - Gresch, P. J., Sved, A. F., Zigmond, M. J., Finlay, J. M. (1994) Stress – induced sensitization of dopamine and norepinephrine afflux in medial prefrontal cortex of the rat. *Journal of Neurochemistry*. 63. 575 – 583.
 - Gulpinar M. A. & Yegen B. C. (2004) The physiology of learning and memory: role of peptides and stress. *Current Protein and Peptide Science*. 5. 457-73
 - Hashimoto S. (2000) Anxiolytic effects of serotonin reuptake inhibitors and their mechanism of action. *Hokkaido Igaku Zasshi*. 75. 421-436.
 - Hiroi R. y Neumaier J.F. (2006) Differential effects of ovarian steroids on anxiety versus fear as measured by open field test and fear-potentiated startle. *Behavioural Brain Research*. 166. 93 – 100.
 - Hotte M., Naudon L. & Jay M. T. (2005) Modulation of recognition and temporal order memory retrieval by dopamine D₁ receptor in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*. 84. 85-92
 - Izquierdo, I. y Medina J. H. (1997) Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in others brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory*. 68. 285-316.
 - Izquierdo, I. y Medina, J. H. (2002) Correlation between the pharmacology of long-term-potentiation and the pharmacology of memory. *Neurobiology of Learning and Memory*. 63. 19-32.
 - Johnson, E. O., Kamilaris, T. C., Chrousos, G. P. y Gold, P. W. (1992) Mechanisms of stress: A dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosciences and Biobehavioral Reviews*. 16. 115 – 130.
 - Judd, F., Burrows, D. y Norman, T. (1985) The biological basis of anxiety. An overview. *Journal of Affective Disorders*. 9. 271 – 284.
 - Kalin, N. H., Shelton S. E. y Davison R. J. (2004) The Role of the Central Nucleus of the Amygdala in Mediating Fear and Anxiety in the Primate. *Journal of Neuroscience*. 24. 5506 – 5515.

-
- Kandel, R. E., Schwartz, H. J. y Jessell, M. T. (2001) Principios de Neurociencias. McGraw-Hill Interamericana. 4. España. 1247-1277.
 - Kim, J. J. y Diamond, D. M. (2002) The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature Reviews Neuroscience*. 3. 453-462.
 - Kim, J. J. y Yoon, S. K. (1998) Stress: Metaplastic effects in the hippocampus. *Trends of Neuroscience*. 21. 505-509.
 - Klenerová, V., Kaminský, O., Sida, P., Krejci, I., Hlinak, Z. y Hynie, S. (2002) Impaired passive avoidance acquisition in Sprague_Dawley and Lewis rats after restraint and cold stress. *Behavioural Brain Research* 136. 21 – 29.
 - Klenerová, V., Jurcovicova, J., Kaminsky, O., Sida, P., Krejci, I., Hlinak, Z. y Hynie, S. (2003) Combined restraint and cold stress in rats: effects on memory processing in passive avoidance task and on plasma levels of ACTH and corticosterone. *Behavioural Brain Research*. 142. 143–149.
 - Korol D. L., Malin L. E., Borden A. K., Busby A. R. & Couper-Leo J. (2004) Shifts in preferred learning strategy across the estrous cycle in female rats. *Hormones and Behavior*. 45. 330 – 338.
 - Korz V. y Frey J. U. (2005) Bidirectional modulation of hippocampal long-term-potential under stress and no stress conditions in basolateral amygdala-lesioned and intact rats. *The Journal of Neurosciences*. 25. 7393-7400.
 - Langeland, W y Olf, M. (2007) Psychobiology of posttraumatic stress disorder in pediatric injury patients: A review of the literature. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Article in Press.
 - Maki P. M., Rich J. B. y Rosenbaum S. (2002) Implicit memory varies across the menstrual cycle: estrogen effects in young women. *Neuropsychologia*. 40. 518 – 529.
 - Marcondes, F. K., Bianchi, F. J. Y Tanno, A. P. (2002) Determination of the estrous cycle phases of the rat: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*. 62.

-
- Marcondes, F. K., Miguel, K.J. Melo, L.L y Spadari-Bratfisch, R.C. (2001) Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiology & Behavior*. 74. 435– 440
 - Mendlowicz MV, Stein MB. (2000) Quality of life in individuals with anxiety disorders. *American Journal of Psychiatry*. 157. 669–682
 - McMillen, B. y McDonald, C. (1983) Selective effects of buspirone on molindone on dopamine metabolism and function in the striatum and frontal cortex of the rat. *Neuropharmacology*. 22. 273 – 278.
 - Millan, M. (2003) The neurobiology and control of the anxious states. *Progress in Neurobiology*. 70. 83 – 224.
 - Mouna, M. y Levin, G. R. (2001) Exposure to Acute Stress Blocks the Induction of Long Term Potentiation of the Amygdala–Prefrontal Cortex Pathway *In Vivo*. *The Journal of Neurosciences*. 23. 4406-4409.
 - Morissette M., Biron D. y Di Paolo T. (1990) Effects of estradiol and progesterone on rat striatal dopamine uptakes sites. *Brain Research Bulletin*. 25. 419 – 422.
 - Murphy B. L., Arnsten A. F. T, Jentsch J. D. & Roth R. H. (1996) Dopamine and spatial working memory in rats and monkeys: pharmacological reversal of stress-induced impairment. *Journal of Neurosciences*. 16. 7768-7775.
 - Nakane T, Audhya T, Kanie N y Hollander CS, (1985) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 82: 1247 – 1251.
 - Netto C. E.F. & Nunes S. R.L. (2004) Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice. *Behavioural Brain Research*. 148. 119-132.
 - Ninan P.T. (1999) The functional anatomy, neurochemistry and pharmacology of anxiety. *Journal of Clinic Psychiatry*. 60. 7-12.
 - Niyomchai T., Russo J. S., Festa D. E., Akhavan A., Jenab S. & Quiñones-Jenab V. (2005) Progesterone inhibits behavioral responses and estrogen increases corticosterone levels after acute cocaine administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 80. 603-610.

-
- Oitzl, M. S. y de Kloet, E. R. (1992) Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behavioral Neuroscience*, 106, 62–71.
 - Pacák K, Palkovits M, Kvetnanský R, Yadid G, Kopin IJ y Goldstein DS, (1995) Effects of various stressors on in vivo norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and on the pituitary-adrenocortical axis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 771: 115 – 130.
 - Packard M. G., McGaugh J. L. (1996) Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*. 65. 65-72
 - Pani, L., Porcella, A. y Gessa, G. L. (2000) The role of stress in the pathophysiology of the dopaminergic system. *Molecular Psychiatry*. 5. 14 – 21.
 - Robbins T.W. y Everitt B.J. (1992) Functions of dopamine in the dorsal and ventral striatum. *Seminars in Neuroscience*. 4. 119 – 127.
 - Roozendaal, B. (2002) Stress and Memory: Ongoing Effects of Glucocorticoids on Memory Consolidation and Memory Retrieval. *Neurobiology of Learning and Memory*. 78. 578–595.
 - Roozendaal, B. (2004) Systems mediating acute glucocorticoid effects on memory consolidation and retrieval. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 27. 1213–1223
 - Sánchez, V., A. (2002) Brain changes underlying the long – term effects of a single previous exposure of emotional or systemic stressors in rat: a view from the hypothalamic – pituitary – adrenal axis. Tesis de doctorado. Instituto de Neurobiología. Universidad de Barcelona. España.
 - Sandi, C., Woodson, J., Haynes, V., Park, C., Touyarot, K., López – Fernandez, M., Venero, C. y Diamond D. (2005) Acute Stress-Induced Impairment of Spatial Memory Is Associated with Decreased Expression of Neural Cell Adhesion Molecule in the Hippocampus and Prefrontal Cortex. *Biological Psychiatry*. 57. 856 – 864.

-
- Sandstrom, N.J. y Williams C.L. (2004) Spatial memory retention is enhanced by acute and continuous estradiol replacement. *Hormones and Behavior*. 45. 128– 135.
 - Sandy C.; Venero. C. y Cordero. M. I. (2001) Estrés, memoria y trastornos asociados. 1. *Ariel Neurociencia*. España. 125-180.
 - Sapolsky R. M., Romero L. M. y Munck A. U. (2000) How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*. 21. 55-89.
 - Sareen, J., Campbell, D., William, D., Malisza, K., Stein, M., Paulus, M., Kravetsky, L., Kjernisted, K., Walker, J., y Reiss, J., (2007) Striatal function in generalized social phobia: a functional magnetic resonance imaging study. *Biological Psychiatry*. 61 . 396–404.
 - Selye H, (1956) *The stress of life*. New York. McGrawHill. 1. 18 – 36.
 - Shors TJ, (2001) Acute stress rapidly and persistently enhances memory formation in the male rat. *Neurobiology of learning and memory*. 75: 10 – 29.
 - Simon, H. (1981) Dopaminérgica A10 neurons and frontal system. *Journal of Phisiologie*. 77. 81 – 95.
 - Stillman, M. J., Shukitt, B., Levy, A. y Lieverman, H. (1998) Spatial memory under acute cold and restraint stress. *Physiology & Behavior*. 64. 605 – 609.
 - Stein D.J., Westenberg H.G., Liebowitz M.R. (2002) Social anxiety disorder and generalized anxiety disorder: serotonergic and dopaminergic neurocircuitry. *Journal of Clinical Psychiatry*. 63. 12-19.
 - Sutcliffe J.S., Marshall, K.M. y Nelly J.C. (2007) Influence of gender on working and spatial memory in the novel object recognition task in the rat. *Behavioural Brain Research*. 177.117–125.
 - Tanaka M., Kohno Y. Nakagawa R., Ida Y., Takeda S. y Nagasaki N. (1982) Regional responses of rat brain noradrenergic neurones to acute intense stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 14. 729 – 732.

-
- Takahashi, R. N., Panplona, F. A. y Fernandez F. S. (2005) The cannabinoid antagonist SR141716A facilitates memory acquisition and consolidation in the mouse elevated T-maze. *Neuroscience Letters*. 380. 270-275.
 - Treit, D. (1984) Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 9. 203-222.
 - Vallès A, Martí O, Harbuz MS, Armario A, (2002) A single lipopolysaccharide administration is sufficient to induce a long-term desensitization of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Neuroscience*. 112: 383 – 389.
 - Viana, M. B.; Tomas C.; Graeff, F. G. (1994) The elevated T maze: a new animal model of anxiety and memory. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 49. 549-554.
 - Vianna, M. R. M.; Izquierdo L. A.; Barros D. M.; de Souza M. M.; Rodrigues C; Sant’Anna M. K; Medina J.H. e Izquierdo I. (2001) Pharmacological differences between memory consolidation of habituation to an open field and inhibitory avoidance learning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 34. 233-240.
 - Vianna, M. R. M.; Izquierdo, L. A.; Barros, M. D.; Walz R.; Medina, J. H. e Izquierdo I. (2000) Short- and Long-term memory: Differential involvement of neurotransmitter systems and signal transduction cascades. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 72. 353-365.
 - Walf AA, Rhodes ME y Frye CA. (2006) Ovarian steroids enhance object recognition in naturally cycling and ovariectomized, hormone primed rats. *Neurobiology of Learning and Memory*. 86. 35–46.
 - White N. M. y McDonald R. J. (2002) Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*. 77. 122-184.
 - Wickliffe C. A.; Logan, B.; Greenwood J. M. y Dragunow M. (2002) Induction and Experience-Dependent Consolidation of Stable Long-Term Potentiation Lasting Months in the Hiocampus. *The Journal of Neurosciences*. 22. 9626-9634.
 - Wood, G. E. y Shors, T. J. (1998) Stress facilitates classical conditioning in males, but impairs classical conditioning in females through

activational effects of ovarian hormones. *Psychology BS.* 95. 4066 – 4071.

- Woodson J. C., Macintosh D., Fleshner M y Diamond D. (2003) Emotion-Induced Amnesia in Rats: Working Memory-Specific Impairment, Corticosterone-Memory Correlation, and Fear Versus Arousal Effects on Memory. *Learning and Memory.* 10. 326-336.
- Wu, J. C., Buchsbaum, M. S., Hershey, T. G. (1991) PET in generalized anxiety disorders. *Biological Psychiatry.* 29. 1181 – 1189.
- Yin H. H. y Knowlton B. J. (2004) Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learning and Memory.* 11. 459-463.
- Zahrt J., Taylor R. J., Mathew G. R., & Arnsten F. T. A. (1997) Supranormal Stimulation of D₁ Dopamine Receptors in the Rodent Prefrontal Cortex Impairs Spatial Working Memory Performance. *Journal of Neurosciences.* 17. 8528-8535.
- Zanatta, M.S.; Quillfeldt, J.H.; Schaeffer E.; Schmitz P.K.; Quevedo J.; Medina J.H. e I. Izquierdo. (1997) Involvement of the hippocampus, amygdala, entorhinal cortex and posterior parietal cortex in memory consolidation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 30. 235-240.
- Zimmerberg, B. y Farley M. (1993) Sex Differences in Anxiety Behavior in Rats: Role of Gonadal Hormones. *Physiology & Behavior.* 54. 1119-1124.
- Zurkovsky, L., Brown, S.L., Boyd, S.E. Fell, J.A. y Korol, D.L. (2007) Estrogen modulates learning in female rats by acting directly at distinct memory systems. *Neuroscience.* 144. 26–37.