



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR**

**DEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS COGNITIVAS**

**“PAPEL DE VASOPRESINA EN LA MODULACIÓN AMIGDALINA  
DE LA ANSIEDAD”**

**T E S I S**

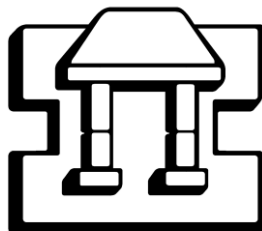
PARA OBTENER EL GRADO DE

**B I O L O G O**

PRESENTA

**OSCAR RENÉ HERNÁNDEZ PÉREZ**

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. MIGUEL PÉREZ DE LA MORA



Tlalnepantla, Estado de México

Marzo, 2015.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Este trabajo de tesis fue realizado en el departamento de neurociencias cognitivas del instituto de fisiología celular perteneciente a la UNAM bajo la dirección del Dr. Miguel Pérez de la Mora y con apoyo económico:

**DGAPA-PAPIIT:**

Beca otorgada a Hernández Pérez Oscar René para conclusión de estudios superiores proyecto de investigación IB202112 otorgado a la Dra. Magdalena Guerra Crespo

**DGPA**

Apoyado parcial de los proyectos de investigación IN 203111 e IN204314 otorgados al Dr. Miguel Pérez de la Mora.

**CONACYT**

Beca otorgada a Hernández Pérez Oscar René como “Ayudante de investigador” del Dr. Miguel Pérez de la Mora con expediente 647, 8834.

*“NO IMPORTA EL GANAR O PERDER UNA BATALLA; SI NO EL CONSTANTE ATREVIMIENTO.  
POR QUE FUI EDUCADO PARA LEVANTARME DEL FANGO UNA Y CUANTAS VECES SEA  
NECESARIO”*

*PROVERBIO MEXICA*

*“HAY COSAS QUE POR OSCURAS NO SE COMPRENDEN  
HAY COSAS QUE POR BRILLANTES, NO DEJAN VER”*

*MONIQUE ZEPEDA*

*Dedico este trabajo a mi familia  
Mis padres: René Hernández Sosa y Maura Pérez Avendaño y a mi  
hermana Jenyffer Priscilla Hernández Pérez.*

*Porque son y siempre serán mi ejemplo a seguir, el motivo de mi  
admiración, los mejores críticos y mi inagotable fuente de apoyo e  
inspiración sin importar las circunstancias.*

## AGRADECIMIENTOS

Todas las historias tienen un comienzo, y en este caso nada habría sucedido de no ser por mis padres a quienes les debo la vida y todo lo que he logrado. Les agradezco que en todo momento se han preocupado por mi bien estar y mis formación, por ser a lo largo de los años el motor para seguir adelante sin perder el objetivo. Por enseñarme día a día que se debe de seguir y que debemos agradecer por lo que tenemos y esforzarnos por lo que queremos.

A ti mami: Por estar siempre a mi lado demostrándome tu apoyo y tu ferviente fe en mí, aun cuando en ocasiones yo mismo no la tenía, por no dejar que pierda la razón ante ninguna circunstancias pero sobre todo por tu amor incondicional desmedido y siempre estar para mí.

A ti Papá: Por impulsarme a ser siempre mejor y retarme en múltiples ocasiones sobre mi capacidad, por enseñarme que siempre se puede seguir adelante y que la actitud en todo momento debe ser de agradecimiento y gratitud pero sin perder la dignidad.

Jeny: Desde que tengo uso de razón has estado a mi lado, escuchando mis historias y riéndote de mis tonterías, siempre me has escuchado y apoyado, dándome consejos que en ocasiones no he entendido y sobre todo siempre recordándome que estás ahí, sin importar nada y que a lo largo de la vida estaremos apoyándonos. Te quiero mucho hermana.

Ale: En cada momento desde que has estado a mi lado me has apoyado, me has permitido vivir experiencias que han resultado magnificas y que al día de hoy me han permitido crecer, disfruto mucho compartir momentos y acumular experiencias juntos, los sentimientos son extraordinarios y me alegra compartir contigo quien soy y ante todo brindarme tu cariño.

A mis amigos entrañables:

Javier: Porque sin tu guía y tú convicción en mí tal vez estaría en otro sitio, tú me inculcaste el amor por la biología, siempre presente a pesar de todo, siempre creativo, siempre apoyando, siempre a mi lado.

Pancho: Por en todo momento apoyarme dentro y fuera de la FES, porque vivimos demasiadas experiencias que marcaron quienes somos hoy en día y que las aventuras jamás se olvidaran, por todo lo que compartimos y me has enseñado y por lo que aún falta por vivir.

Alejandro: Porque hemos pasado bueno y malos momentos juntos pero siempre apoyándonos y siempre será así, una vez lo dije y lo confirmo así son los amigos y para eso son, se te quiere y valoro mucho todo lo que hemos compartido y todas tus muestras de amistad.

A mis amigos a lo largo de la carrera: Laura, Mariana “ñoña”, Gustavo, Omar, Fernando, Pablo, Liz, Noemí, Miriam, Paola y a todos los demás del 51 que vivimos muchas aventuras que siempre estarán en mi memoria y de las cuales aprendí demasiadas cosas que hoy forman parte de quien soy y me guían hacia donde me dirijo.

A mis compañeros de laboratorio: Rebeca, Luis, Juan Carlos, Diana y Salvador que en cada momento estuvieron a mi lado animando y apoyando en la realización del trabajo, que sus palabras de aliento y sus constantes aportaciones permitieron que finalmente se terminara la tesis.

Al Dr. Miguel Pérez de la Mora por el apoyo en el desarrollo de mi formación académica, así como las múltiples enseñanzas y el tiempo empleado en la dirección de mi tesis.

A la Q.F.B. Minerva Crespo por su apoyo desde mi entrada al laboratorio y el tiempo empleado en mi formación; así como los innumerables momentos a través de los cuales estuvo presente.

Agradezco al Dr. N. Emmanuel Díaz Martínez por su apoyo invaluable, desde mi ingreso al IFC en todo momento me impulso en el desarrollo de habilidades tanto teóricas como prácticas y me mostro que la investigación puede ser diferente.

A la Dra. Elizabeth Palomares Castillo por los consejos y enseñanzas a lo largo del tiempo y que ha sido un gran apoyo en mi estadía en el laboratorio, y que me ha enseñado que la responsabilidad no está peleada con la diversión.

A los revisores de mi tesis:

Dr. Jorge Ricardo Gersenowies Rodríguez,  
Dra. Alicia Elizabeth Hernández Echeagaray  
Dr. Juan Manuel Mancilla Díaz  
Dr. Sara Eugenia Cruz Morales

Por sus comentarios y sugerencias en pro de mejorar este trabajo.

A todos muchas gracias....

## RESUMEN

La arginina vasopresina (AVP) es un nonapéptido sintetizado en el núcleo paraventricular (PVN) y supraóptico (SON) del hipotálamo. Ha sido descrito como un neuropéptido involucrado en la ansiedad, mediando sus efectos por dos tipos de receptores el V1a y el V1b, que se encuentran expresados en diversas regiones cerebrales incluyendo la amígdala, que es conocida como una estructura fundamental en el procesamiento de la ansiedad con particular interés en el núcleo central (CeA) al ser referido como el sitio que desencadena la respuestas conductuales y autonómicas ante la ansiedad. En el presente trabajo se realizó una microinfusión de AVP de manera bilateral e intra-amigdalina en el CeA a ratas sometidas a dos pruebas para la evaluación de la ansiedad, con la intención de conocer los efectos ejercidos por la AVP en paradigmas conductuales que evalúan diferentes facetas de la ansiedad. Para este fin, fue administrada AVP en dos concentraciones diferentes (1ng/lado y 10ng/lado) y evaluadas en el laberinto elevado en cruz (LEC) y el enterramiento defensivo (ED). Los resultados muestran efectos de la AVP en su concentración de un 1ng / lado en ambos paradigmas; obteniendo resultados diferenciales al aumentar la ansiedad en el ED y disminuyéndola en el LEC sin observarse efectos de AVP en la locomoción de los animales en ninguno de los casos. Con base a los resultados es posible concluir que la AVP ejerce efectos diferentes en los niveles de la ansiedad dependiendo del paradigma empleado para su evaluación así también que el CeA se encuentra fuertemente involucrado en el procesamiento de la ansiedad. Finalmente resulta necesario la administración de antagonistas selectivos para los receptores de AVP para poder atribuir los efectos a un receptor en específico.



## INDICE

<b>CAPITULO 1. ANSIEDAD</b>	<b>12</b>
1.1. Descripción general de miedo y ansiedad	12
1.2. Diferenciación entre miedo y ansiedad	13
1.3. Epidemiología	14
<b>CAPITULO 2. MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA ANSIEDAD</b>	<b>16</b>
2.1. Modelos condicionados	17
2.2. Modelos no condicionados	18
<b>CAPITULO 3. SUSTRATO ANATOMICO DE LA ANSIEDAD</b>	<b>20</b>
3.1. Sistema Límbico	20
3.2. Amígdala	21
3.3. Conectividad amigdalina.	26
3.4. Participación de la amígdala en la integración de la ansiedad	28
<b>CAPITULO 4. LOS NEUROTRANSMISORES DE LA AMÍGDALA</b>	<b>32</b>
4.1. Arginina Vasopresina.	34
4.2. Síntesis y liberación de la arginina vasopresina.	35
4.3. Receptores de arginina vasopresina.	38
4.4. Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA).	40
4.5. La arginina vasopresina y su relación con la ansiedad.	42
<b>CAPITULO 5. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>45</b>
5.1. Justificación.	45
5.1. Hipótesis.	46
5.2. Objetivos.	46
5.2.1. General	46
5.2.2. Particulares	46
<b>CAPITULO 6. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES</b>	<b>47</b>
6.1. Animales.	47
6.2. Sustancias químicas.	47
6.3. Procedimiento quirúrgico.	48
6.4. Microinyección.	48
6.5. Evaluaciones conductuales.	49
6.6. Prueba de laberinto elevado en cruz.	49
6.7. Prueba de enterramiento defensivo.	50
6.8. Prueba de campo abierto.	50
6.9. Evaluación Histológica.	51
6.10. Análisis de Datos.	52

<b>CAPITULO 7. RESULTADOS</b>	<b>53</b>
<b>7.1. Análisis histológico.</b>	<b>53</b>
<b>7.2. Análisis conductual en el laberinto elevado en cruz.</b>	<b>56</b>
7.2.1. <i>Número de entrada totales</i>	56
7.2.2. <i>Número de entradas a brazos abiertos</i>	57
7.2.3. <i>Tiempo de permanencia en los brazos abiertos</i>	58
7.2.4. <i>Prueba de campo abierto</i>	59
<b>7.3. Análisis conductual en la prueba de enterramiento defensivo.</b>	<b>60</b>
7.3.1. <i>Latencia de enterramiento</i>	60
7.3.2. <i>Número de choques</i>	61
7.3.3. <i>Tiempo de enterramiento</i>	62
7.3.4. <i>Locomoción</i>	63
<b>CAPITULO 8. DISCUSIÓN</b>	<b>64</b>
<b>CAPITULO 9. CONCLUSIONES</b>	<b>69</b>
<b>LITERATURA</b>	<b>70</b>

## **ABREVIATURAS**

Acetilcolina (ACh)

Ácido gamma-aminobutírico (GABA)

Adenilato ciclase (AC)

Adenosin monofosfato 3'5'cíclico (AMPc)

Área amigdalina hipocámpal (AHA)

Área anterior de la amígdala (AAA)

Arginina vasopresina (AVP)

Colestoquinina (CCK)

Corteza cerebral (Ctx)

Corteza periamigdalina (PAC)

Corteza prefrontal medial (mPFC)

Corticotropina (ACTH)

Diacilglicerol (DAG)

Dopamina (DA)

Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA)

Enterramiento defensivo (ED)

Estímulo condicionado (EC)

Estímulo incondicionado (EI)

Fosfolipasa c (PLC)

Glutamato (GLU)

Hormona liberadora de corticotropina (CRH)

Inositol trifosfato (IP3)

Islas intercaladas paracapsulares (IPC)

Laberinto elevado en cruz (LEC)

Noradrenalina (NA)

Núcleo anterior cortical (CoA)  
Núcleo basal (B)  
Núcleo basal accesorio (AB)  
Núcleo basolateral (BLA)  
Núcleo cama de la estria terminal (BNST)  
Núcleo cama del tracto olfativo accesorio (BAOT)  
Núcleo central de la amígdala (CeA)  
Núcleo del tracto olfativo lateral (NLOT)  
Núcleo lateral (LA)  
Núcleo medial de la amígdala (MeA)  
Núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN)  
Núcleo posterior cortical (CoP)  
Núcleo supraóptico del hipotálamo (SON)  
Núcleo supraquiasmático del hipotálamo (SCN)  
Polipéptido intestinal vasoactivo (VIP)  
Proteína quinasa c (PKC)  
Ratas wistar de alta ansiedad (HAB)  
Ratas wistar de baja ansiedad (LAB)  
Septum lateral (LS)  
Serotonina (5HT)  
Sistema nervioso central (SNC)

# CAPITULO 1

## ANSIEDAD

### 1.1. Descripción general de miedo y ansiedad

La ansiedad puede definirse desde el punto de vista biológico como la respuesta adaptativa de un sistema de alarma que reconoce y prepara a un organismo a contender en contra de un peligro real o potencial que amenace su integridad física y/o mental (Pellow et al., 1985; de Olmos & Heimer, 1999; Pérez de la Mora, 2007a).

Fisiológicamente cuando un individuo se enfrenta a la sensación de amenaza de su integridad (real o imaginaria) genera una serie de manifestaciones que incluyen:

- Respuestas autónomas: Incremento de la frecuencia cardíaca, elevación de la presión arterial, palidez, aumento de la frecuencia respiratoria, hiperactividad de las glándulas sudoríparas, incremento o disminución de la motilidad intestinal (Carrive, 2000).
- Respuestas endócrinas: Elevación de los niveles sanguíneos de cortisol (corticosterona en los roedores), adrenalina y noradrenalina (Selye & Fortier, 1950).
- Respuestas musculares y reflejas: Manifestadas por un aumento de la tensión muscular y de los reflejos musculo-tendinosos tendientes a preparar a un individuo para la huida o la lucha (Selye & Fortier, 1950).
- Respuestas conductuales: Observables en forma de inhibición conductual (inmovilidad), inquietud, agitación, huida o agresión (Selye & Fortier, 1950).

Así, cuando un individuo se enfrenta a una situación de peligro, el conjunto de cambios conductuales y vegetativos que despliega el sujeto orientados a enfrentar de manera adecuada dicha situación. Por lo tanto, la ansiedad representa una estrategia adaptativa que proporciona al organismo un mecanismo de alarma que, como se señaló antes, lo prepara para enfrentarse a una situación de peligro. Es por ello que puede decirse que es uno de los procesos cerebrales directamente involucrados en la sobrevivencia de diferentes especies animales, especialmente de aquellas que por su naturaleza son víctimas de los depredadores (LeDoux, 1996).

## **1.2. Diferenciación entre miedo y ansiedad**

Debido a la importancia que la ansiedad juega como sistema de alarma ante una amenaza resulta complicado diferenciarla del miedo, ya que ambas emociones tienen como respuesta signos y síntomas similares. Sin embargo, puede establecerse como diferencia fundamental el grado de definición con que se percibe el estímulo que los produce (Pérez de la Mora, 2007b). De esta manera, el **miedo** es definido como un estado motivacional que surge ante un objeto externo al sujeto, que es real, ubicable e implica un peligro inminente para el mismo. La **ansiedad**, en cambio, es un estado del organismo que se da ante una amenaza desconocida, vaga o indefinida, que incluso puede no estar presente. El estrés, más difícil de definir que las otras dos entidades. Podríamos definirlo sin embargo, como un estado en el cual un individuo se ve alterado debido a la sucesión de episodios de miedo y ansiedad que generan reacciones fisiológicas o psicológicas que resultan de influencias externas o internas que actúan sobre él, y que tienden a restaurarla. De acuerdo con lo anterior ansiedad, miedo y estrés podrían ser variantes de un mismo sistema de alarma que protege a un individuo (Pérez de la Mora, 2007a).

De acuerdo con esto, a pesar que conceptualmente un individuo que se enfrenta a un león podría experimentar miedo a perder su vida, también experimenta ansiedad ante la incertidumbre sobre la manera como esto podría ocurrir, la separación clínica de ambas entidades en ese momento de peligro sería totalmente imposible. Los niveles adecuados de ansiedad y/o miedo son benéficos para un individuo en tanto que garantizan su sobrevivencia; sin embargo cuando estas ocurren desproporcionadamente con respecto al estímulo o se presentan sin que este exista, representan estados patológicos que pueden llegar a incapacitar a un sujeto (Neumann et al., 2010).

### **1.3. Epidemiología**

Como se mencionó antes, los niveles exagerados y sin control de ansiedad derivan en respuestas patológicas que llegan a afectar a los individuos generando un estado de incomodidad constante y en algunas ocasiones impidiéndoles realizar actividades; es por ello que debido a su incidencia y frecuencia han sido descritos como un tipo de trastorno mental en el “Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales” (DSM por sus siglas en inglés) publicado por *American Psychiatric Association*.

El DSM en su quinta edición (2013) describe los trastornos de ansiedad con base a los síntomas característicos que los individuos presentan así como a su frecuencia y cronicidad. Entre los síntomas característicos que se presentan se cuentan, entre otros, la ansiedad excesiva y persistente, así también una intranquilidad constante por situaciones que el individuo encuentra difícil de controlar. El sujeto experimenta además síntomas físicos que incluyen excitación o nerviosismo, fatiga, dificultad para concentrarse (reporta tener la mente en blanco), irritabilidad, tensión muscular y alteraciones del sueño.

En una revisión sistemática (Kessler, 2007) se analiza el impacto de la ansiedad en la población general y se concluye que:

- 1) Los trastornos de ansiedad tienden a la cronicidad, dado que entre el 60 al 70% de las personas manifiestan haber presentado un trastorno de ansiedad a lo largo de su vida, o reportan que lo han tenido activo en los últimos 6 a 12 meses.
- 2) Los trastornos de ansiedad se inician a los 15 años de edad aproximadamente.
- 3) Existe una alta comorbilidad entre los trastornos ansiosos y depresivos, ya que más de la mitad de las personas que presentan alguno de estos padecimientos tiene el otro.
- 4) Es probable que la prevalencia de los trastornos de ansiedad a lo largo de la vida de un sujeto se haya incrementado en los últimos años.

Los trastornos de ansiedad a nivel mundial tienen una prevalencia estimada a lo largo de la vida de un individuo entre 13,6% y 28,8% (Alonso et al., 2004; Kessler, 2007) y es importante hacer mención que en su mayoría no son atendidos.

La Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica llevada a cabo en México en el 2003 reporta que el tipo de trastornos psiquiátricos más frecuentes son los trastornos de ansiedad tanto en la categoría “alguna vez en la vida” (14.3%), como en “los últimos 12 meses” (8.1%) y en el “último mes” (3.2%) (Medina-Mora et al., 2007).

La comorbilidad que presentan los individuos con un trastorno de ansiedad es alta: tres de cada cuatro personas que han padecido algún tipo de trastorno de ansiedad a lo largo de su vida reportan haber tenido otro trastorno mental a lo largo de ella. Cabe señalar que es conocido que existe una fuerte asociación entre los trastornos de ansiedad y los trastornos afectivos (Medina-Mora et al., 2007).



## CAPITULO 2

### MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA ANSIEDAD

La ansiedad es un padecimiento recurrente en la población y las consecuencias asociadas a estos padecimientos son diversas; por lo cual resulta necesario ahondar en su estudio para poder comprenderlos (Garakani, et al., 2006).

Es por ello, con la intención de entender las bases biológicas que subyacen a la ansiedad, surgió por razones éticas y prácticas la necesidad de emplear modelos animales que permitan experimentar para poder identificarla, cuantificarla e implementar de acuerdo a los mecanismos descubiertos en el curso de la experimentación posibles tratamientos. Para tales fines se han desarrollado modelos que nos permiten someter a un animal a determinadas manipulaciones experimentales y evaluar el grado de la ansiedad producida. En estos modelos el sufrimiento del animal es minimizado y han sido ampliamente validados mediante el uso de sustancias que generen ansiedad (ansiogénicos) o que la disminuyen (ansiolíticos) (Griebel & Holmes, 2013).

Los modelos se basan en la capacidad de los animales para responder ante un estímulo que reconocen como ajeno o potencialmente peligroso y normalmente propician una respuesta endócrina y autónoma como un aumento en la frecuencia cardiaca, la temperatura corporal, el nivel de adrenalina, noradrenalina y de la corticosterona en la sangre (Benelli et al., 2000).

Este tipo de alteraciones fisiológicas se acompañan de alteraciones de la conducta que tienden a ser extremas, y pueden verse reflejadas en un incremento en la locomoción del animal, una conducta de evitación o bien un “congelamiento” conductual (Steimer, 2002).

Los modelos desarrollados para el estudio de la ansiedad pueden ser divididos en dos (Rodgers, 1997): los modelos condicionados y los no condicionados (Tabla 1).

**Tabla 1. Modelos animales utilizados en el estudio de la ansiedad**

Respuesta condicionada	Respuesta no condicionada
1.Pruebas de conflicto: Prueba de Geller-Seifter Prueba de Vogel	1.Pruebas exploratorias: Laberinto elevado en cruz Transiciones luz/oscuridad Campo abierto
2.Otras: Evitación activa/pasiva Supresión condicionada a la ingesta de líquidos Respuesta emocional condicionada Vocalizaciones ultrasónicas condicionadas	2. Pruebas sociales: Vocalizaciones ultrasónicas inducidas por separación Interacción social
	3. Otras Hiponeofagia Conducta defensiva de enterramiento

Adaptado de Rodgers & Johnson, 1995.

### 2.1. Modelos condicionados

El término condicionado se refiere a lo que ocurre en un proceso denominado “condicionamiento clásico” o “condicionamiento Pavloviano”. Este procedimiento consiste en la presentación de un estímulo condicionado biológicamente neutro (EC), (a menudo un tono o luz), junto con estímulo incondicionado (EI) nocivo o perjudicial (típicamente una descarga eléctrica leve). En consecuencia, el EC trata de obtener respuestas de comportamiento típicas de la especie (presumiblemente innatas) (Bouton & Bolles,1980) y que son apoyadas por ajustes fisiológicos controlados por el sistema nervioso autónomo (ej., cambios en la frecuencia cardíaca, presión arterial, respiración) (Schneiderman et al., 1974).o por sistemas

endocrinos (ej., hormona adrenocorticotrópica, cortisol, epinefrina)(Sakaguchi et al.,1983). El proceso de condicionamiento permite que el EI altere la eficacia de la EC en los circuitos que controlan la activación respuestas de defensa en previsión de daños.

El procedimiento de condicionamiento se da debido a un proceso llamado “aprendizaje asociativo” que es una característica de los circuitos en los sistemas nerviosos de los animales (Rescorla & Holland, 1982). Cuando el aprendizaje asociativo se produce por el proceso de condicionamiento del miedo, el proceso de aprendizaje en sí también se llama condicionamiento del miedo.

A través del condicionamiento, los investigadores, tienen el control de las variables (las variables independientes, EC y EI) y puede medir los resultados (variables dependientes, tales como el comportamiento de inmovilidad o respuestas autónomas del sistema nervioso) (Gómez, et al., 2002).

## **2.2. Modelos no condicionados**

Este tipo de modelos a diferencia de los condicionados tienen bases etológicas, ya que explotan comportamientos filogenéticamente heredados o innatos que presentan los animales ante diversas situaciones en su hábitat. Los modelos no condicionados se caracterizan por situar al animal en circunstancias que se asemejan a lo que podría ocurrirle espontáneamente a un individuo de su especie en su ambiente natural (ej. confrontamiento con un depredador). Estos modelos deben su nombre a que los animales no requieren condicionarse como se describió antes y son menos susceptibles a ser influidas por procesos mnemotécnicos y motivacionales (Rodgers, 1997).

A pesar de su aparente simplicidad, los modelos no condicionados son más complejos que los condicionados, debido a que muestran mayor variabilidad en las conductas a registrar y pueden verse los resultados afectados por una actividad motora anormal, producto de las manipulaciones experimentales hechas (Gómez, et al., 2002).

Cabe señalar que a pesar de que ambos tipos de modelos permiten el estudio de la ansiedad, los modelos no condicionados aportan información sobre las características de la respuesta a la ansiedad propiamente dicha, en tanto que los condicionados nos dan información en torno a la plasticidad (memoria) que se genera asociada a la presencia del estímulo ansiogénico y que permite al individuo predecir y prepararse ante la presencia de un depredador o la ocurrencia de un evento aversivo en un futuro casi inmediato (Gómez, et al., 2002).

## CAPITULO 3

### ***SUSTRATO ANATOMICO DE LA ANSIEDAD***

En la primera parte del siglo XX, los investigadores identificaron el hipotálamo como una estructura clave en el control del sistema nervioso autónomo. Sobre la base de estas observaciones iniciales de Cannon, (1925) y en su propio trabajo, Karplus y Kreidl, (1927) propusieron una teoría de la emoción basada en tres puntos importantes: (1) el hipotálamo evalúa la relevancia emocional de los eventos ambientales, (2) la expresión de las respuestas emocionales está mediada por la descarga de impulsos desde el hipotálamo en el tronco cerebral, (3) las proyecciones provenientes del hipotálamo a la corteza cerebral median la experiencia consciente de la emoción (Bard, 1928).

En 1937 Papez (Pinel, 2007) añadió estructuras adicionales localizadas en el cerebro anterior a la teoría, pero conservó el papel central de las conexiones ascendentes y descendentes del hipotálamo. MacLean (1949) denominó posteriormente a los circuitos emocionales como: el cerebro anterior, el cerebro visceral, y más tarde, el sistema límbico.

#### **3.1. Sistema Límbico**

Paul MacLean (1949) propuso la teoría del cerebro triuno, la cual decía que el cerebro se estructuraba en tres partes:

- *Cerebro reptiliano*, Es el más antiguo evolutivamente. Incluía el complejo estriatal y los ganglios basales, atribuyéndoles la generación de emociones como el miedo y la agresión.
- *Cerebro visceral*, Procesaría respuestas más complejas que el cerebro reptiliano. Incluía la mayoría de los componentes propuestos en el circuito de Papez, como el tálamo, hipotálamo, hipocampo y corteza cingulada,

además de la amígdala y la corteza prefrontal. Este es conocido como sistema límbico.

- *Neocorteza*, Conecta emoción y cognición, ejerce control sobre las respuestas producidas por los otros sistemas.

El llamado sistema límbico, a través del hipotálamo y sus conexiones con las aferencias del sistema nervioso autónomo y su control del sistema endocrino, puede influir en muchos aspectos del comportamiento emocional. Esto incluye particularmente las reacciones de miedo, enojo y las emociones asociadas con la conducta sexual. A pesar que aún no se tiene un acuerdo unánime respecto a las estructuras que conforman el sistema límbico, dentro de él se incluyen la circunvoluciones parahipocampales y del cíngulo, la formación hipocampal, el área septal, el área ventral tegmental, las áreas olfatorias y la amígdala (De Celis, 2007).

### **3.2. Amígdala**

La amígdala fue identificada en 1819 por el anatomista alemán Karl Friedrich Burdach (LeDoux, 2007) quien identificó una estructura en la profundidad del lóbulo temporal, que presentaba una forma de almendra; debido a su semejanza con dicho fruto la denominó amígdala (almendra en latín) (Fig.1).

Es hasta 1937 cuando la amígdala es considerada como una región relacionada con la emoción, gracias a los trabajos realizados en monos (Klüver & Bucy, 1937). Estos trabajos demostraron que la remoción bilateral de los lóbulos temporales, en donde se aloja la amígdala, producía una serie de conductas anormales que incluían: pérdida de reactividad emocional, aumento en la conducta exploratoria, tendencia al reconocimiento de objetos mediante la boca e hipersexualidad. Esta serie de experimentos resaltaron la importancia de los lóbulos temporales y al conjunto de síntomas antes mencionados se les denominó síndrome de Klüver-Bucy.

Fue hasta 1956 cuando Weiskrantz demostró que la hiperoralidad, la pasividad y demás características del síndrome de Kluver-Bucy, eran generados debido a la extirpación o lesión de la amígdala (Weiskrantz, 1956), implicándola con ello en el procesamiento de las emociones; particularmente el miedo y la ansiedad (LeDoux, 2003).

En seres humanos y otros animales la amígdala, está ligada a respuestas tanto de miedo, como placer. Diferentes condiciones, como la ansiedad, el autismo, la depresión, la narcolepsia, el trastorno por estrés postraumático, las fobias y la esquizofrenia, están asociadas con un funcionamiento anormal de la amígdala debido a una lesión, trastornos del desarrollo o un desequilibrio de distintos neurotransmisores (Castro-Sierra et al., 2005).

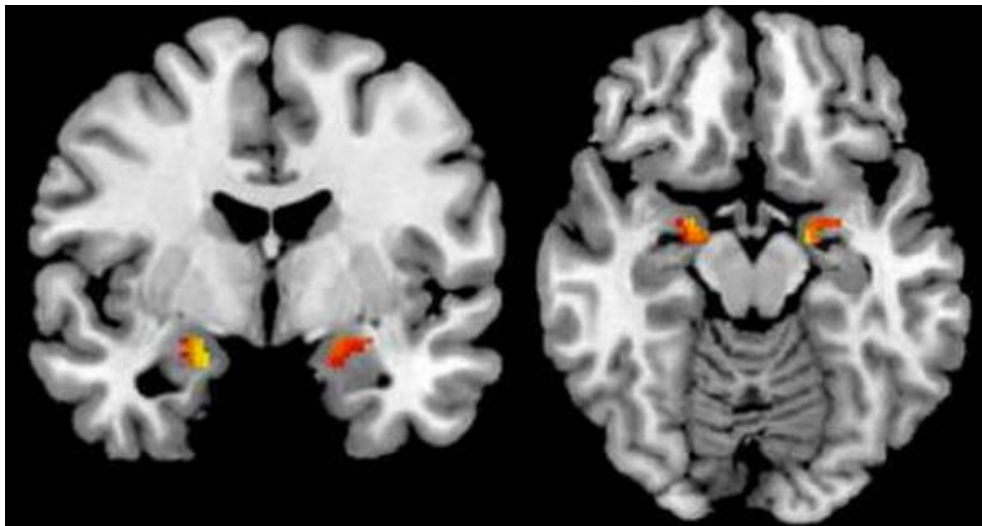


Figura 1. Localización anatómica de la amígdala en el cerebro. En la figura en color rojo y amarillo se muestra en cortes coronales y sagitales la ubicación de la amígdala dentro del lóbulo temporal. Modificado de Schlund & Cataldo (2010).

Los núcleos de la amígdala se pueden dividir en tres grupos (Price et al., 1987):

- 1) El grupo profundo o basolateral. Incluye al núcleo lateral, el núcleo basal y el núcleo basal accesorio.
- 2) El grupo superficial o cortical. Incluye los núcleos corticales y el núcleo lateral del tracto olfativo.

### 3) El grupo centromedial. Compuesto de los núcleos medial y central.

Finalmente, hay un conjunto de núcleos separados que no caen fácilmente en cualquiera de estos tres grupos y se tratan por separado. Estos incluyen las islas intercaladas y el área amígdalo-hipocámpal (Fig.2).

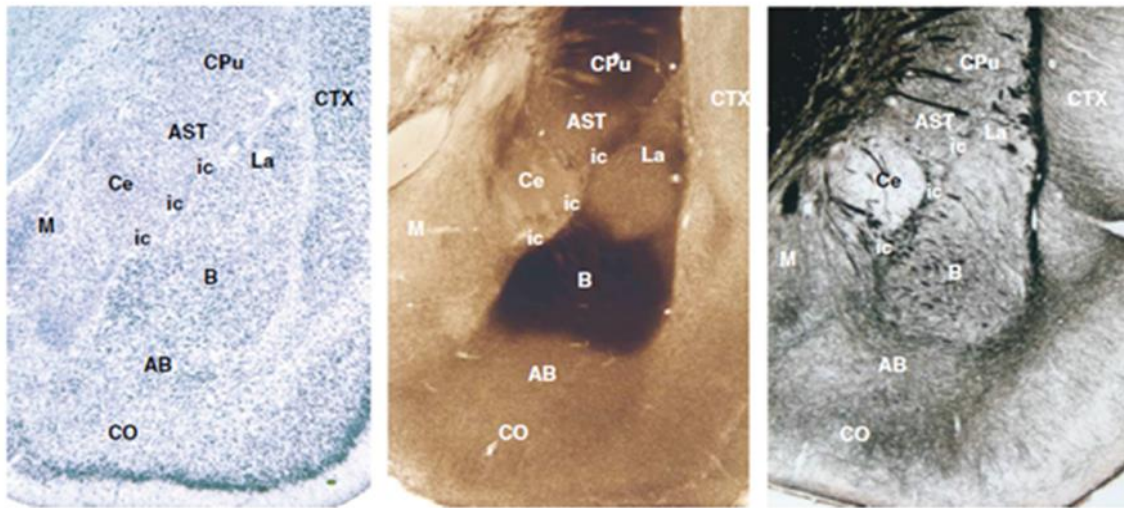


Figura 2. Núcleos amigdalinos mostradas en el cerebro de la rata utilizando diferentes métodos de tinción. Panel izquierdo: Tinción celular de Nissl, Panel medio: Tinción para la acetilcolinesterasa, Panel derecho: Tinción con plata. Abreviaturas: AB, núcleo accesorio basal; B, núcleo basal; Ce, núcleo central; ic, células intercaladas; La, núcleo lateral; M, núcleo medial; CO, núcleo cortical. Áreas que no son de la amígdala: AST, área estriato-amígdalina de transición; CPu, caudado putamen; CTX, corteza. Tomado de LeDoux, 2007.

#### *Núcleo Basolateral*

El núcleo basolateral está comprendido por el núcleo lateral (LA), el núcleo basal (B), que en otras clasificaciones es llamado el núcleo basolateral (BLA), y el núcleo basal accesorio (AB), que también se conoce como el núcleo basomedial (Fig.3). A menudo, estos tres núcleos son colectivamente referidos como el complejo basolateral (Johnston, 1923).

#### *Núcleos corticales*

A pesar que estas estructuras son superficiales se les denomina núcleos. Muchos tienen características corticales ya que están ubicados en la superficie del



cerebro y tienen una estructura laminar (Price et al., 1987). Ellos comprenden el núcleo del tracto olfatorio lateral (NLOT), el núcleo cama del tracto olfatorio accesorio (BAOT), el núcleo anterior y posterior cortical (CoA y CoP, respectivamente), y la corteza periamígdalina (PAC).

### *Núcleos centromediales*

El grupo nuclear centromedial se encuentra en la parte dorsomedial del complejo amigdalino y consiste de la parte central (CeA), medial (MeA), y el núcleo cama de la estria terminal (BNST) dentro de lo que se ha dado en llamar la amígdala extendida (de Olmos & Heimer, 1999).

### *Otros núcleos amigdalinos*

Otros núcleos que no fueron incluidos en la clasificación anterior pero que se encuentran dentro de la amígdala son el área anterior de la amígdala (AAA), el área amígdala-hipocampal (AHA) y las islas intercaladas paracapsulares (IPC). El AHA es la más caudal de los núcleos de la amígdala y se compone de una subdivisión medial y otra lateral. Las islas intercaladas son pequeños grupos de neuronas que se encuentran en grupos dentro de haces de fibras que separan a diferentes núcleos amigdalinos (Millhouse, 1986; Palomares-Castillo et al., 2012).

La clasificación anterior se ha adoptado por muchos autores, sin embargo algunos otros han sugerido una clasificación diferente que sería más adecuada basada en diferentes características por ejemplo las conexiones conocidas de la amígdala (Alheid & Heimer, 1988; Alheid et al., 1995), o por las características estructurales y funcionales propias de cada núcleo como lo mencionado por Swanson y Petrovich (Swanson & Petrovich, 1998; Swanson, 2000).

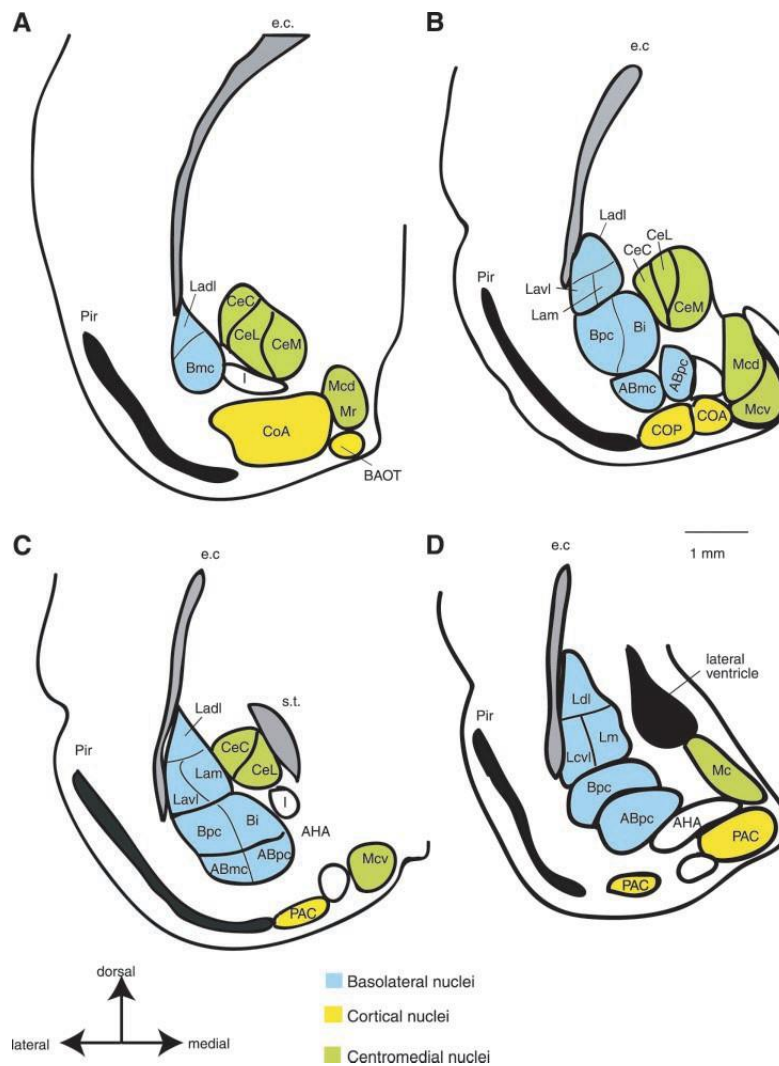


Figura 3. Los núcleos de la amígdala en la rata. Se muestran secciones coronales sucesivas en sentido rostro-caudal (A – D). Los diferentes núcleos se dividen en tres grupos como se describe en el texto. Las áreas en color azul forman el grupo basolateral, áreas en amarillo son el grupo cortical, y las zonas en color verde el grupo centromedial. Abreviaturas: ABMC, núcleo accesorio basal, subdivisión magnocelular; ABPC, núcleo accesorio basal, subdivisión parvicelular; Bpc, núcleo basal, subdivisión magnocelular; E.C., cápsula externa; Ladl, amígdala lateral, subdivisión medial; Lam, amígdala lateral, subdivisión medial; Lavl, amígdala lateral, subdivisión ventrolateral; Mcd, amígdala dorsal subdivisión medial; Mcv, amígdala medial subdivisión ventral; Mr, amígdala medial subdivisión rostral; Pir, corteza piriforme; ST, estricta terminal. Tomado de Sah, et al., 2003.

### 3.3. Conectividad amigdalina.

Funcionalmente, la amígdala está considerada como una estructura esencial para el procesamiento emocional de las señales sensoriales, ya que recibe proyecciones de todas las áreas de asociación sensorial. Es esta convergencia de proyecciones anatómicas la que sitúa a la amígdala como la estructura responsable para la formación de asociaciones entre los estímulos y el refuerzo o el castigo (Jones & Mishkin, 1972). Además de las proyecciones corticales procedentes de las distintas áreas de asociación sensorial, también la amígdala recibe aferencias talámicas (LeDoux, et al., 1987).

Estudios realizados por McDonald (1998) han demostrado que cada uno de los núcleos amigdalinos recibe múltiples entradas (inputs, aferencias) provenientes de diferentes regiones del cerebro. Las proyecciones eferentes (Fig.4) (que salen de la amígdala) son también abundantes y se dirigen tanto a regiones corticales como subcorticales (Pitkänen, 2000).

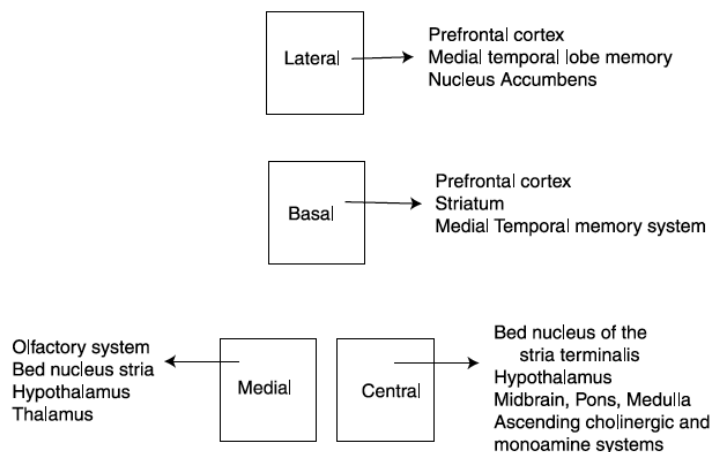


Figura 4. Representación de eferencias amigdalinas. La amígdala es dividida en cuatro núcleos: lateral, basal, media y central y se muestran los diferentes sitios a donde son dirigidas sus proyecciones. Tomado de Sah et al., 2003.

Las fibras que llegan a la amígdala (aférentes) son numerosas y provienen de estructuras corticales y talámicas así como del hipotálamo o del tallo cerebral (Fig. 5). Las entradas corticales y talámicas suministran información proveniente de las áreas sensoriales y de estructuras relacionadas con los sistemas de memoria. Mientras que las entradas hipotalámicas y del tronco encefálico provienen de regiones que participan en la conducta y en los sistemas autónomos. La principal fuente de información sensorial a la amígdala, es la corteza cerebral (Ctx) y el tálamo, que proporciona información tanto a la amígdala como a la corteza cerebral (McDonald, 1998).

Desde el punto de vista bioquímico estas proyecciones son predominantemente glutamatérgicas, y surgen de la capa V de la corteza, provenientes de neuronas piramidales. La mayoría de ellas son ipsilaterales y entran en la amígdala a través de la cápsula externa. La mayoría de las proyecciones corticales se originan en las áreas de asociación y transmiten información procesada por una serie de conexiones cortico-corticales originadas en la corteza sensorial primaria.

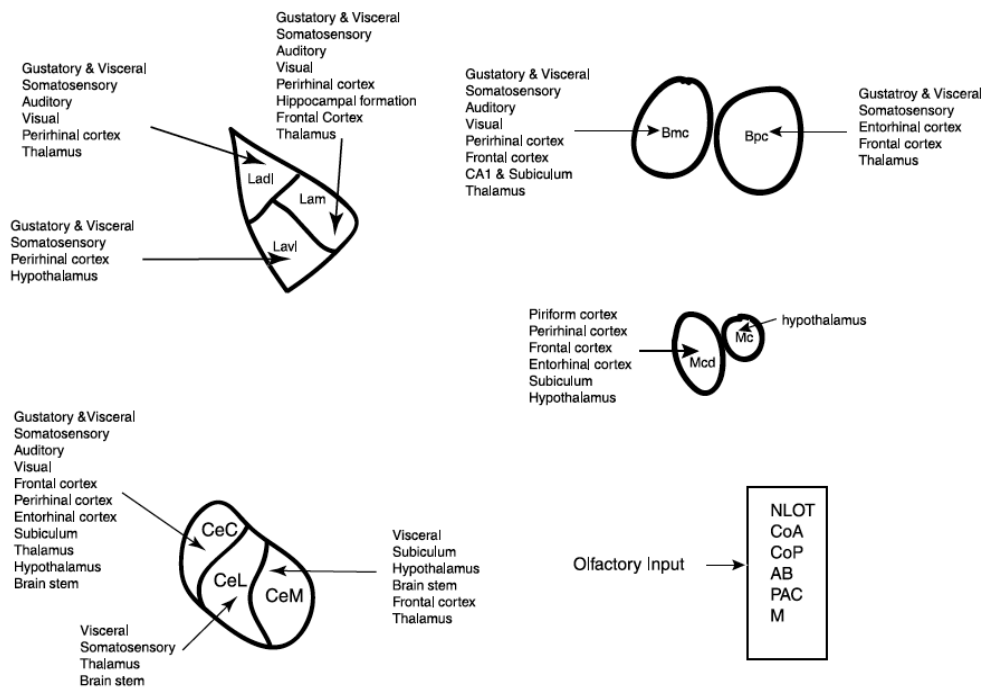


Figura 5. Proyecciones de entrada en núcleos amigdalinos. Se muestran diferentes aferencias sensoriales de distintos sitios. Tomado de Sah et al., 2003.

### **3.4. Participación de la amígdala en la integración de la ansiedad**

Considerable trabajo realizado en diversos laboratorios ha permitido elaborar un modelo sobre la participación de la amígdala en la ansiedad. Dicho modelo (LeDoux, 2000) ha sido desarrollado esencialmente utilizando resultados provenientes de modelos de ansiedad condicionada, que como se señaló antes, utilizan modelos relativamente simples y con poca base etológica, por lo que podría no necesariamente ajustarse a situaciones más complejas, como las que se presentan en la vida de un sujeto, ni ser válido para explicar la generación de la ansiedad no condicionada. Sin embargo, a pesar de sus limitaciones, dicho modelo ha demostrado ser hasta la fecha un modelo robusto que permite responder a muchas de las preguntas que se generan en torno a la ansiedad (LeDoux, 2000, 2003, 2007).

Para que un organismo reaccione ante una amenaza, ya sea potencial o real es necesario que la información sea procesada por diversas estructuras del SNC para dar de una manera adecuada respuesta al estímulo (Dalglish, 2004).

A continuación se describen las fases y regiones cerebrales con mayor importancia en este procesamiento:

#### ***1. Percepción del estímulo.***

El primer paso es la percepción del estímulo mediante las vías sensoriales primarias (visual, sensorial, motora) que envían su Información hacia el tálamo (de Olmos & Heimer, 1999).

#### ***2. Procesamiento talámico de la información***

El tálamo es considerado una importante “estación retransmisora” debido a que tras de llegar a el toda la información sensorial que proviene del medio ambiente, con excepción de la olfativa es retransmitida directamente a la amígdala. La información recibida por esta estructura, dependiendo de la situación aversiva

que la genera, puede seguir una vía larga o una corta (Debiec & LeDoux, 2004). La vía corta se refiere a la transmisión de información directa del tálamo hacia la amígdala, lo que genera una representación rápida y poco precisas del estímulo, pero suficiente para conocer si este es amenazante o no. Esta vía permite dar una respuesta rápida y exitosa al peligro que pone en entredicho la supervivencia del sujeto (Debiec & LeDoux, 2004).

La vía larga involucra el envío de información hacia las cortezas sensoriales primarias y su posterior re-envío a la corteza prefrontal medial (mPFC), en donde se realiza un procesamiento más detallado que permite obtener una representación más precisa del estímulo amenazante. Una vez que esta información ha sido procesada dentro de la corteza prefrontal medial es enviada a la amígdala (Debiec & LeDoux, 2004).

### ***3. Procesamiento de la información en la amígdala***

#### *Complejo basolateral*

La información sensorial proveniente del tálamo y de la corteza llega al complejo basolateral de la amígdala, y es contrastada con la información que llega del tálamo (vía corta). Una vez que esta información a sido localmente procesada es re-direccionada hacia el CeA, en donde se implementan los componentes autonómicos y hormonales propios de la respuesta ansiosa; al núcleo accumbens que le da a esta respuesta su componente motivacional y de regreso a la mPFC, en donde posiblemente la ansiedad se hace consciente (Davis & Whalen, 2001; Pérez de la Mora, 2007b). Por otro lado, es comúnmente aceptado, que dentro del núcleo lateral es donde se produce la plasticidad que se asocia a la información contenida en los estímulos potencialmente aversivos con lo que se encuentran los individuos.

### *Núcleo central*

Una vez que la información generada por la amenaza ha sido evaluada, es enviada, como se indicó antes, al CeA que es la parte de la amígdala encargada de generar una respuesta somática y autonómica acorde a la naturaleza y magnitud de la amenaza. La respuesta ansiosa puede implementarse en dicho núcleo debido a que su porción medial es asiento de grupos neuronales con proyecciones hacia los centros responsables de regular funciones autonómicas tales como: la actividad cardiovascular, la respiración, el tono muscular y la intensidad de los reflejos (Pérez de la Mora et al, 2007b) así como de aquellos encargados de modular la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA), localizados en el tallo cerebral y el hipotálamo respectivamente.

### *Islas intercaladas paracapsulares*

Dado que no existen conexiones entre el núcleo lateral y la porción medial del núcleo central, que como se indicó antes, es la responsable de implementar la respuesta ansiosa, se ha sugerido que la información integrada en el complejo basolateral tiene un relevo en las islas intercaladas paracapsulares (IPC), antes de llegar a la porción medial del CeA, pues dichas islas reciben numerosas aferencias del complejo basolateral y proyectan hacia la porción medial del CeA. Tales agrupamientos insulares son conglomerados muy densos de interneuronas GABAérgicas, que se encuentran localizados entre el BLA y CeA (Pare et al., 2004; Perez de la Mora et al., 2006; Pérez de la Mora, 2007; Pérez de la Mora et al., 2008), y específicamente rodeando la mitad rostral del complejo basolateral.

En virtud de que hay evidencia experimental que sugiere que dichas interneuronas ejercen una influencia inhibitoria tónica entre ellas y sobre las neuronas de la porción medial del CeA (Royer et al., 1999), se ha sugerido que pudieran funcionar a manera de una interface inhibitoria, con la capacidad para regular, tanto espacial como temporalmente el paso de impulsos nerviosos provenientes del complejo basolateral o de otras localidades extra-amigdalinas

con dirección a la porción medial del CeA (Royer et al., 1999; Paré et al., 2004; De Celis, 2007; Pérez de la Mora et al, 2008).

En resumen, de acuerdo al modelo más aceptado en la actualidad la información sensorial relevante del medio ambiente alcanza el complejo basolateral de la amígdala directamente vía aferencias talámicas o corticales y tras de ser procesada localmente es enviada, a la porción medial del CeA en donde las respuestas de ansiedad son implementadas. Dada la falta de conexiones entre el Bla y la porción medial del CeA, asiento de las neuronas que proyectan a los núcleos encargados de dar la respuesta ansiosa, se ha propuesto que sean las neuronas GABAérgicas de las islas IPC las encargadas de conectar anatómicamente a estas dos estructuras y modular funcionalmente el paso de impulsos nerviosos entre ellas (Véase la Fig. 6)

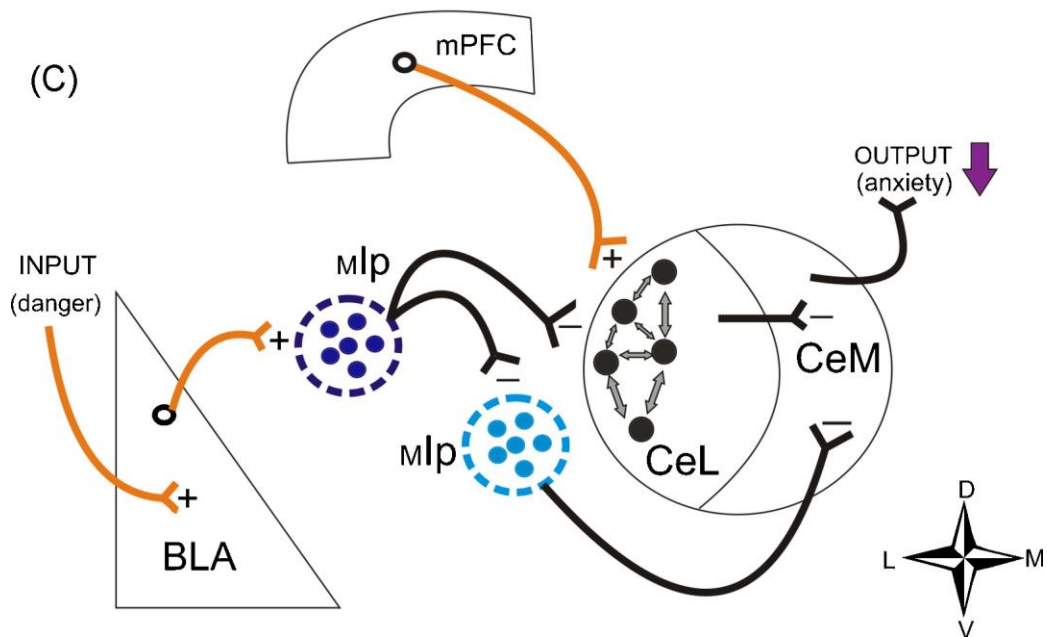


Figura 6. Procesamiento de la información en la amígdala. Tomado de la Mora et al., 2010.



## CAPITULO4

### LOS NEUROTRANSMISORES DE LA AMÍGDALA

La amígdala presenta una anatomía compleja, dentro de la cual prácticamente todos los neurotransmisores, así como algunos péptidos y hormonas pudieran estar presentes (Tabla 2). La citoquímica del complejo amigdalino demuestra la presencia de varios neurotransmisores como la noradrenalina (NA), dopamina (DA), acetilcolina (ACh), serotonina (5HT), ácido gamma-aminobutírico (GABA) y glutamato (GLU) (De Celis, 2007).

A su vez en las células y terminaciones del complejo amigdalino se hallan péptidos como la somatostatina, encefalina, sustancia P, colecistoquinina, neurotensina y polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) (De Celis , 2007).

Tabla 2. Algunos Neurotransmisores y neuropeptidos reportados en la amígdala

Sustancia	Origen	Núcleo amigdalino
<b>GABA</b>		Central, Medial
<b>Glutamato</b>		Central, Medial
<b>Dopamina (DA)</b>	Sustancia nigra del mesencefalo Área ventral tegmental	Central
<b>Noradrenalina (NA)</b>	Locus coeruleus	Central
<b>Serotonina (5HT)</b>	Núcleo dorsal del rafe	Basal , Lateral
<b>Acetilcolina (ACh)</b>	Sustancia inominada	Basal
<b>Sustancia P</b>	Intrinseco	Central, Medial
<b>Encefalina</b>	Intrinseco	Central, Medial
<b>Neurotensina</b>	Intrinseco	Central, Medial
<b>Colicistoquinina (CCK)</b>		Lateral, Corteza piriforme
<b>Péptido Intestinal Vasoactivo</b>		Lateral, Corteza piriforme
<b>Vasopresina</b>	Núcleo paraventricular y supraóptico del hipotálamo	Central, Medial
<b>Somatostatina</b>		Lateral, Corteza piriforme

Modificada de De Celis, 2007.

Debido a que la amígdala es considerada una estructura fundamental en el procesamiento de la ansiedad, se han hecho esfuerzos considerables para determinar el papel que tiene cada uno de los neurotransmisores encontrados en ella en la modulación de la ansiedad (Tabla 3).

Tabla 3. Papel de algunos neurotransmisores en la modulación de la ansiedad.

Sustancia	Efecto global
<b>GABA</b>	Ansiolítico
<b>Glutamato</b>	Ansiogénico
<b>Dopamina (DA)</b>	Ansiogénico
<b>Noradrenalina (NA)</b>	Ansiogénico
<b>Serotonina (5HT)</b>	Ansiogénico
<b>Colicistoquinina (CCK)</b>	Ansiogénico
<b>Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP)</b>	No determinado
<b>Neuropeptido Y (NPY)</b>	Ansiolítico
<b>Opioides</b>	Ansiolítico
<b>Sustancia P</b>	Ansiogénico
<b>Moduladores Neuronales</b>	
<b>Progesterona</b>	
<b>Vasopresina</b>	Ansiogénico
<b>Factor de liberación de corticotropina (CRF)</b>	

Modificada de De Celis, 2007.

Es posible destacar por su abundancia e importancia, dentro de los neurotransmisores que tienen efecto en la ansiedad al ácido  $\gamma$ -amino-butírico denominado GABA (por sus siglas en inglés), el cual tiene un efecto ansiolítico y al glutamato (GLU), que tiene un papel ansiogénico. Los otros neurotransmisores, con acciones también sobre la ansiedad, tendrían el papel de modular en forma compleja la actividad de estos dos grandes sistemas (De Celis, 2007).

#### 4.1. Arginina Vasopresina.

La arginina vasopresina (AVP) es una neurohormona presente en la mayoría de los mamíferos, incluyendo al ser humano. Es una hormona pequeña (oligopéptido) constituida por nueve aminoácidos: NH<sub>2</sub>-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-COOH (Fig. 7) (Stoop, 2012).

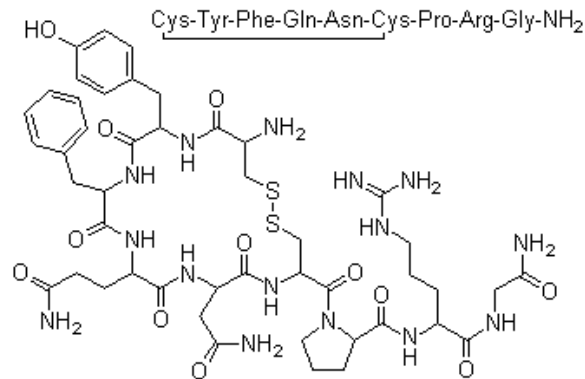


Figura 7. Estructura molecular de arginina vasopresina

La arginina vasopresina fue descrita en 1953 por Du Vigneaud como una molécula con actividad antidiurética (Taylor et al, 1953); sin embargo, tres décadas después fue identificada como un neuropéptido producido en el cerebro. Dicho neuropéptido ha sido involucrado en la regulación de funciones cerebrales superiores, tales como el aprendizaje, la memoria y la emotividad, así también se ha demostrado que tiene influencia en una gran variedad de comportamientos sociales (Caldwell & Young, 2006) que son independientes de sus efectos hormonales (Landgraf & Neumann, 2004) (Fig. 8).

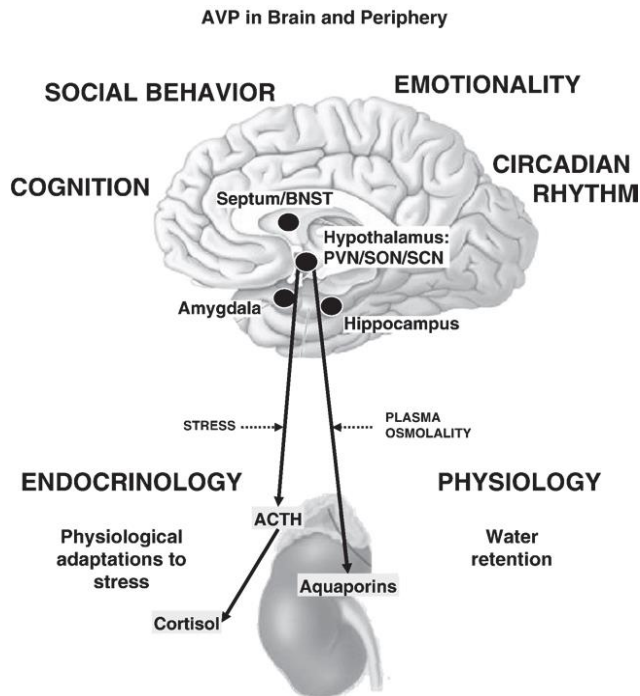


Figura 8. Arginina vasopresina en el cerebro y la periferia. La arginina vasopresina tiene efectos como neurotransmisor mediados después de su liberación en el cerebro y funciones hormonales después de su liberación en el sistema circulatorio. Abreviaturas: BNST núcleo cama de la estria terminal, PVN Núcleo paraventricular, SON núcleo supraóptico, SCN núcleo supraquiasmático, ACTH corticotropina. Tomado de Caldwell, et al., 2008.

#### 4.2. Síntesis y liberación de la arginina vasopresina.

La AVP es sintetizada principalmente en el hipotálamo, en dos tipos diferentes de neuronas, las magnocelulares y parvocelulares. Las neuronas magnocelulares se encuentran principalmente en el núcleo paraventricular (PVN) y supraóptico (SON) de esta estructura (Fig. 9). Extra hipotalámicamente se ha reportado al BNST y a la MeA como las dos mayores fuentes productoras de AVP, ya que muestran una densa inmunoreactividad para el péptido (Hallbeck, et al., 1999).

El precursor de AVP se sintetiza en los cuerpos neuronales para posteriormente ser transportado a través de los axones. Durante su transporte la molécula precursora es procesada para convertirse en AVP. Los axones de las

neuronas magnocelulares en el PVN y SON proyectan hacia la pituitaria posterior (neurohipofísis) que recibe el suministro de sangre de la arteria hipofisaria inferior (formando el sistema hipotalamo-neurohipofisiario), en donde la AVP se acumula en las terminales nerviosas y los cuerpos de Herring (Laycock, 2010).

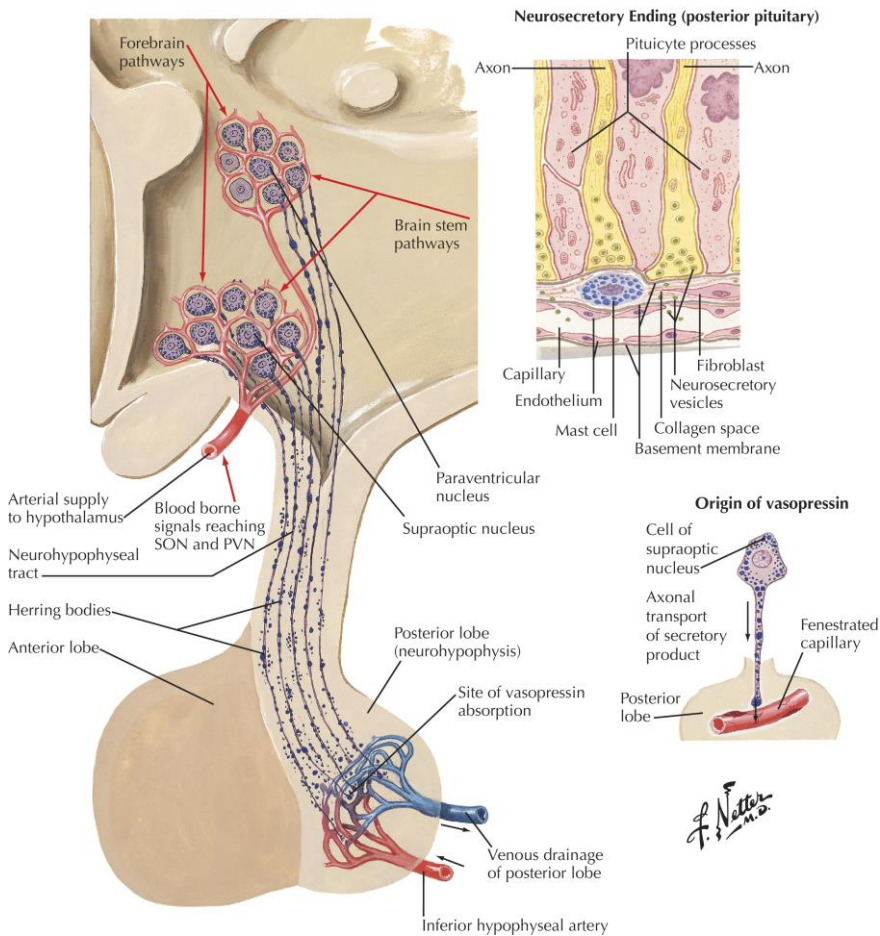


Figura 9. Síntesis y liberación de AVP. Tomado de Holt & Haspel, 2010.

Debido a que los capilares dentro de la glándula pituitaria no tienen barrera hematoencefálica, la AVP es liberada en las proximidades de los capilares lo que permite su rápida integración al torrente sanguíneo (Lenget al., 1999). Del mismo modo, las neuronas parvocelulares del PVN proyectan sus axones a los capilares del plexo portal en la zona externa de la eminencia media de la pituitaria, de donde la AVP es transportada a la pituitaria vía la circulación portal (Scott & Dinan, 1998).

Las neuronas magnocelulares liberan AVP de sus dendritas y cuerpos celulares. Se ha demostrado que tanto los cambios en los niveles de calcio como la despolarización estimulan la liberación de la AVP en las dendritas. Curiosamente, la vasopresina en sí parece ser eficaz para inducir su propia liberación dendrítica (Ludwig et al., 2005). Cabe señalar, que este modo de liberación requiere de su posterior difusión a través del líquido extracelular para que las moléculas de AVP puedan actuar sobre receptores localizados a cierta distancia de su lugar de liberación. Por otro lado, existen fibras vasopresinérgicas que proyectan desde el hipotálamo a subregiones del hipocampo, septo, amígdala, y áreas del tronco cerebral, donde es probable que la AVP sirva como un neurotransmisor (Buijs et al., 1991).

### 4.3. Receptores de arginina vasopresina.

Existen tres subtipos de receptores para AVP: V1a, V1b (antes conocido como V3) y V2. Al ser receptores transmembranales y estar acoplados a proteínas G (GPCR), poseen siete dominios transmembranales, con estructura de  $\alpha$  hélice, con un dominio N-terminal extracelular y un dominio citoplasmático C-terminal (Villabona, 2010).

A pesar que los tres subtipos de receptores pertenecen a la familia de proteínas G, cada uno tiene propiedades farmacológicas diferentes, por lo tanto, la AVP puede ejercer diversos efectos en múltiples tejidos debido a la distribución de los receptores y sus cascadas de segundos mensajeros (Villabona, 2010).

Los receptores V1 (V1a, V1b) se acoplan a la proteína  $G_{\alpha q/11}$  que activan a la fosfolipasa c (PLC), la cual fosforila al 4,5 bifosfato (PIP2), generando 1,4,5 inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3, a su vez, facilita la liberación de calcio intracelular del retículo endoplásmico mientras que el DAG activa a la proteína quinasa C (PKC) en la superficie membranal. La proteína activada fosforila proteínas celulares que son responsables de las respuestas celulares características de estos receptores (Treschan et al., 2008)(Fig. 10).

Los receptores V2 se acoplan en cambio a proteínas  $G_s$  del riñón, las cuales a través de la activación de la adenil-ciclase (AC) y de la cascada de señalización del adenosín monofosfato 3',5' cíclico (AMPc) serán responsables de los efectos renales de la AVP (Zimmerman, 1976; Nielsen et al., 2002).

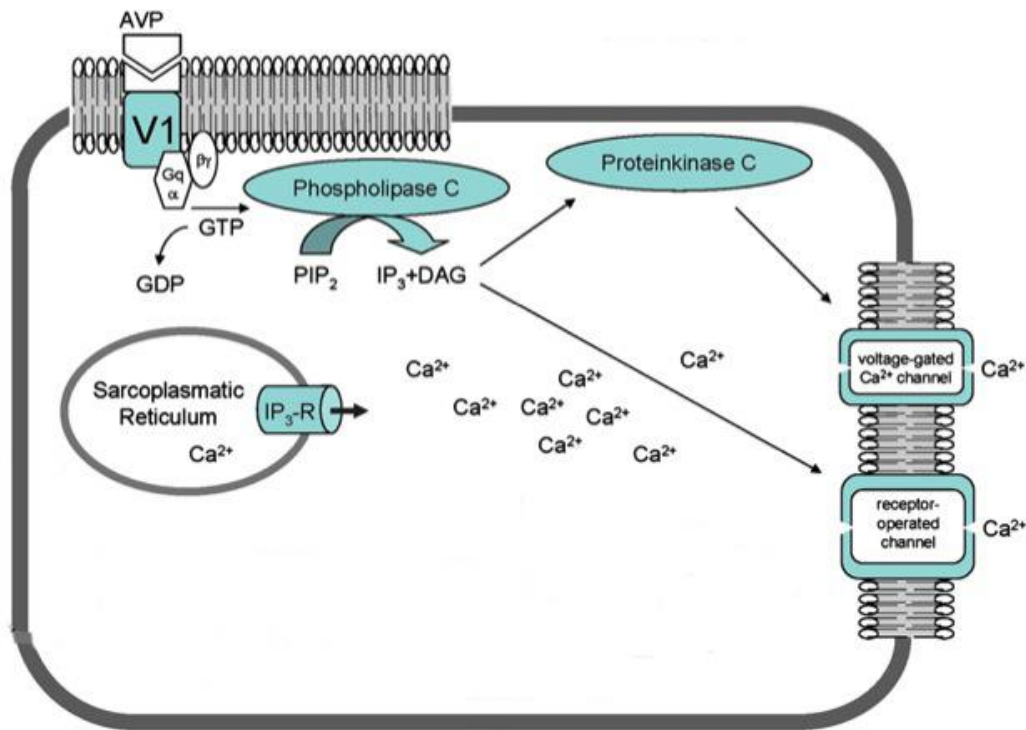


Figura 10. Transducción de señal de arginina vasopresina (AVP). Abs: GDP, guanosín difosfato; Gq  $\alpha$   $\beta$   $\gamma$ , sub unidades de la proteína G; GTP, guanosín trifosfato. Tomado de Maybauer et al., 2008.

Los receptores V1a además de encontrarse en el cerebro se encuentran en una gran variedad de tejidos que incluyen al músculo liso vascular, hígado, riñón, y bazo, mediando diversos efectos biológicos, incluyendo la inducción de hipotensión, vasoconstricción, gluconeogénesis, y la agregación plaquetaria (Zingg, 1996). En el cerebro, el receptor V1a se encuentra en el hipotálamo, septum, hipocampo, núcleo cama de la estría terminal, amígdala central, cerebelo, órgano subfornical, y el plexo coroideo (Ostrowski et al., 1994; Szot et al., 1994; Huber et al., 2005). El receptor V1b se localiza aparte de la adenohipófisis, en donde media la secreción de ACTH a la circulación (Sugimoto et al., 1994), en un buen número de regiones cerebrales tales como: el hipocampo, la zona exterior de la eminencia media, y la amígdala entre otras (Hernando, Schoots, Lolait, & Burbach, 2001). Con respecto a esta última estructura los receptores V1b han sido encontrados en el CeA, MeA (Salome et al., 2006).



#### **4.4. Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA).**

El eje HPA es el resultado de la interacción entre el hipotálamo, la hipófisis (también llamada pituitaria) y la corteza adrenal (localizada en la parte superior de los riñones); desempeña un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis así como en las respuestas ante el estrés (Aguilera, 2011).

La activación del eje (Fig. 10) comienza en el hipotálamo con la síntesis de AVP y la hormona liberadora de corticotropina (CRH), que se liberan a la circulación portal en respuesta a condiciones de estrés. Tras su secreción la AVP potencializa los efectos de CRH, actuando ambos sinérgicamente en células especializadas de la pituitaria anterior (adenohipófisis), en donde estimulan la secreción de la hormona adrenocorticotropa también llamada corticotropina (ACTH) que en la corteza adrenal estimula la secreción de glucocorticoides (corticosterona en roedores y cortisol en humanos) que regulan un gran espectro de condiciones fisiológicas (Antoni, 1993; Engelmann et al., 2004). La sensibilidad del eje HPA a los estímulos de entrada es modulada por un sistema de retroalimentación negativa, que es inhibida por los propios glucocorticoides (Fig. 11).

Por otra parte, las neuronas del hipotálamo en particular las magnocelulares liberan AVP de sus dendritas y cuerpos celulares. Este modo de liberación y comunicación interneuronal incluye su posterior difusión a través del líquido extracelular del cerebro, que permite a las moléculas de AVP actuar como neuromoduladores sobre sus receptores a cierta distancia de su lugar de liberación (Makara et al., 2004).

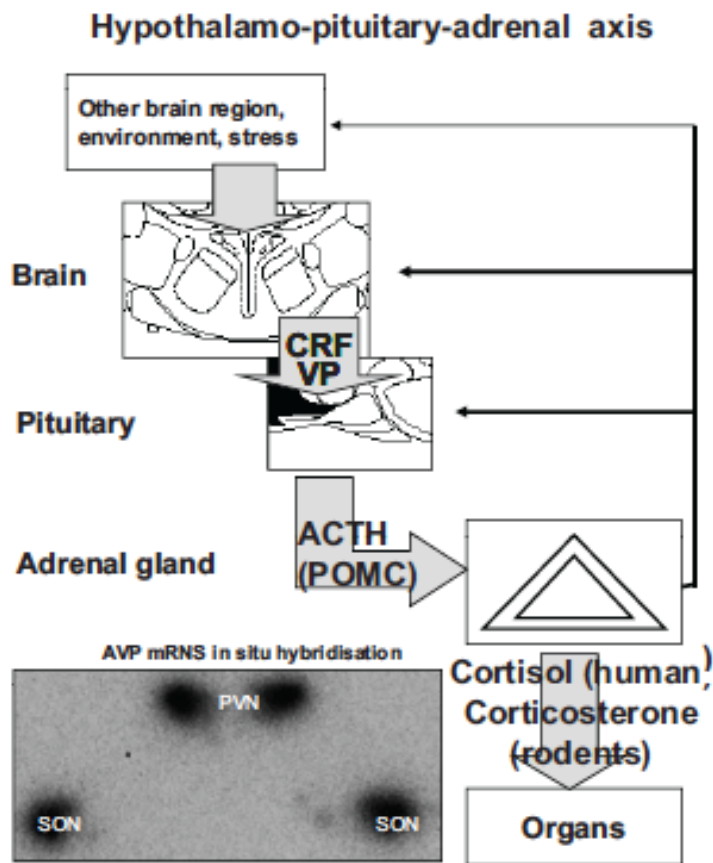


Figura 11. Eje hipotálamo-pituitaria–adrenal. Se muestran las estructuras relacionadas con el eje, así como las sustancias que intervienen durante su activación. Abs: CRF, hormona liberadora de corticotropina; VP, vasopresina; ACTH, corticotropina; SON, Núcleo supraóptico del hipotálamo; PVN, núcleo paraventricular del hipotálamo. Tomado de Zelena, 2012.

#### **4.5. La arginina vasopresina y su relación con la ansiedad.**

Como se ha descrito antes la AVP tiene diversas funciones en los individuos, ejemplo de ello es que su liberación central contribuye a la regulación conductual, incluyendo el aprendizaje, el proceso de memoria, la emocionalidad, el afrontamiento del estrés (Engelmann et al., 1994; Ebner et al., 1999) así como el control de la actividad del eje HPA (Keck et al., 2002; Wotjak et al., 2002).

Tomando como base, que la deficiencia de AVP produce déficits conductuales que pueden ser revertidos por ella misma, Gold y sus colaboradores (1978) intentaron relacionar a este neurotransmisor con padecimientos derivados del estrés, como son la ansiedad y la depresión mayor, y discutieron la existencia de vías vasopresinérgicas en SNC que participaría en el control de procesos fisiológicos y de conducta en enfermedades afectivas. Desde entonces se han desarrollado diferentes estudios para confirmar esta idea.

Los primeras observaciones que involucraron directamente a la vasopresina con la ansiedad fueron llevadas a cabo con ratas Brattleboro (Williams et al., 1983), que derivan de la cepa Long Evans y expresan un gen mutante precursor de la AVP, que resulta en la deficiencia de la misma (Bohus & de Wied, 1998). Las ratas Brattleboro presentan una alta actividad exploratoria y niveles bajos de ansiedad comparadas con ratas normales. En forma similar fue encontrado que dos líneas de ratas de la cepa Wistar cruzadas selectivamente para tener alta (HAB) ó baja ansiedad (LAB) en el laberinto elevado en cruz (LEC) mostraron diferencias en inmunoreactividad para AVP y para su mRNA. Así, mientras las ratas LAB mostraron una baja inmunoreactividad, en las ratas HAB se observó lo opuesto (Keck et al., 2003).

Los estudios farmacológicos realizados han resultado contradictorios. Así, en tanto que la administración intraseptal e intraperitoneal (i.p) de AVP produjo efectos ansiolíticos en el LEC (Appenrodt et al., 1998), Liebsch y colaboradores (1996) reportaron una disminución de los niveles de ansiedad en el mismo modelo y región, tras el bloqueo de los receptores V1a con el antagonista

d(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>Tyr(Me)AVP. En línea con estos últimos resultados, la administración a ratas de un oligo-desoxiribonucleotido anti sentido para los receptores V1a en el septum redujo sus niveles de ansiedad cuando estas fueron expuestas al LEC, (Landgraf et al., 1995) sugiriendo, que los receptores V1 presentes en el septum tienen un papel ansiogénico.

Por otro lado, estudios realizados utilizando ratones transgénicos dieron apoyo adicional al papel ansiogénico de los receptores V1a en la modulación de la ansiedad. Así, en ratones macho knockout (OK) para el receptor V1a se observó una disminución en los comportamientos asociados a la ansiedad en comparación con ratones no manipulados (wildtype) (Bielsky et al., 2004; Egashira et al., 2007). Congruentemente, la sobreexpresión del gene para V1a en el septum lateral resultó en un incremento de las conductas asociadas a la ansiedad (Bielsky et al., 2004).

Por lo que toca al papel de los receptores V1b, la disponibilidad de un antagonista específico para ellos, el SSR149415 (Serradeil-Le Gal et al., 2005), ha permitido analizar su papel en la regulación de la ansiedad. Los resultados de experimentos en los que este compuesto ha sido administrado oralmente a ratas han mostrado que este antagonista tiene un poderoso efecto ansiolítico en varios modelos de ansiedad, entre los que se incluye el EPN. Resulta interesante para este trabajo, que la administración de SSR149415 en el septum lateral no tuvo efectos en el LEC, ni en la prueba de Vogel (Stemmelin et al., 2005) pero sí cuando fue infundido dentro de la amígdala y las ratas fueron evaluadas en el LEC. Los efectos del SSR149415 fueron registrados cuando dicho antagonista fue administrado en el BLA, pero no en el CeA ni el MeA y fueron de naturaleza ansiolítica (Salome et al., 2006) sugiriendo que los receptores V1b juegan un papel ansiogénico en la modulación amigdalina de la ansiedad.

Finalmente, con base en estudios epigenéticos relacionados con el estudio de la ansiedad, se demostró que la hipometilación de los genes para AVP inducida por el estrés en ratones en edades tempranas resultó en una mayor expresión de AVP

y un aumento en la actividad del eje HPA, que dio como resultado en la vida adulta de estos animales una disminución en la capacidad para afrontar el estrés y un déficit en la memoria, que son características frecuentes de los trastornos de ansiedad y/o depresión (Murgatroyd et al., 2010).

## CAPITULO 5

### JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

#### 5.1. Justificación.

La ansiedad en su forma patológica es el padecimiento psiquiátrico más frecuente en México y el mundo, al grado que se considera que cerca del 25% de la población ha padecido ó padecerá algún trastorno de ansiedad (Alonso et al., 2004).

En vista de que aún no se conoce a totalidad el sustrato neurobiológico de la ansiedad y de que su conocimiento resulta indispensable para la generación de medicamentos y estrategias conductuales para su control; los estudios tendientes a conocer dicho sustrato resultan fundamentales.

La AVP parece desempeñar un papel importante en la ansiedad, pues no solo participa en la regulación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal sino también como un modulador de esta respuesta adaptativa a través de sus efectos sinápticos en diversas regiones del sistema nervioso central, pues tanto su administración sistémica, como intraventricular resulta en la aparición de ansiedad. Por otro lado la administración de AVP dentro del núcleo septal, que tiene un papel destacado en la ansiedad, ha resultado en la producción de efectos tanto ansiolíticos como ansiogénicos.

Por otro lado, es generalmente aceptado que la amígdala a través de sus núcleos basolateral (BLA) y central (CeA), que constituyen sus principales estaciones de entrada y salida, juega un papel fundamental en la modulación de la ansiedad. Sin embargo, dado que a pesar que esta estructura tiene una densa innervación AVPérgica y posee una importante densidad de receptores para este neuropéptido el papel que juega este neurotransmisor en la modulación amigdalina de la ansiedad es poco conocida. Por consiguiente se ha considerado de interés estudiar la posible participación de la AVP sobre esta modulación.

## **5.1. Hipótesis.**

La administración bilateral intra amigdalina de arginina-vasopresina (AVP) en el núcleo central de la amígdala (CeA) de la rata (*Wistar*) inducirá un aumento en los niveles de ansiedad.

## **5.2. Objetivos.**

### *5.2.1. General*

Determinar el papel de la AVP en la modulación amigdalina de la ansiedad en la rata.

### *5.2.2. Particulares*

Evaluar el efecto de la administración bilateral intra amigdalina de AVP en el paradigma de laberinto elevado en cruz.

Evaluar el efecto de la administración bilateral intra amigdalina de AVP en el paradigma de enterramiento defensivo.

Evaluar el efecto de la administración bilateral intra amigdalina de AVP en la motricidad de los animales.

Mediante los resultados obtenidos en las pruebas anteriores y la literatura existente al respecto proponer un modelo que permita explicar el papel de la AVP en la modulación amigdalina de la ansiedad.

## CAPITULO 6

### METODOS EXPERIMENTALES

#### 6.1. Animales.

Se utilizaron 100 ratas macho de la cepa Wistar de 250 a 260 g en promedio, 50 de ellas fueron empleadas en la prueba de enterramiento defensivo y 50 en el laberinto elevado en cruz. Las ratas fueron criadas en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular y se hospedaron de manera grupal, bajo condiciones controladas de temperatura (22°C) y luz (ciclo luz/oscuridad de 12:12 h con la luz prendida a las 7.00 A.M.). Los animales fueron mantenidos con agua y alimento *ad libitum*. Todos los estudios reportados en este trabajo fueron llevados a cabo de acuerdo a las especificaciones técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio establecidas en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-Z00-1999) y la "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Institutes of Health of 1996". Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a tres grupos de estudio Grupo control (n=24), al que le fue administrado solución salina fisiológica únicamente (NaCl 0.9%); grupo AVP 1 (n=17), al que se le administró intra-amigdalina 1 ng de AVP por lado y grupo AVP 10 (n=22) que fue tratado con 10 ng de AVP por lado intra-amigdalina.

#### 6.2. Sustancias químicas.

La arginina vasopresina ([Arg8]-Vasopressin acetate) fue adquirida de Sigma Chemical Co., Missouri, USA. La ketamina (Anesket) así como la xilazina fueron adquiridos de la empresa Pisa Agropecuaria, Atlaquie, Hgo; México.



### **6.3. Procedimiento quirúrgico.**

Previo a la implantación de las cánulas guía en la amígdala, las ratas fueron anestesiadas mediante la administración simultánea de clorhidrato de ketamina (170 mg /kg) y xilasina (17 mg/kg) por vía intraperitoneal. Una vez que las ratas fueron anestesiadas se colocaron en el equipo estereotáxico con la barra incisora situada a -3.3 mm. Se realizó una incisión para exponer el bregma y con base en ella se implantaron cánulas guía (C315G, Plastics One, Roanoke, VA, USA) bilaterales, con un diámetro exterior de 0.46 mm dirigidas hacia el núcleo central utilizando las siguientes coordenadas AP: -1.7 mm, ML:  $\pm$  4.2 mm, DV -7.7 mm, de acuerdo al atlas estereotáxico de Paxinus y Watson (1986). Para evitar el desprendimiento de las cánulas guía, estas se fijaron con la ayuda de tornillos de acero inoxidable y acrílico dental. Con objeto de prevenir infecciones se administró Estreptobezetazil V-Fortificado por vía intramuscular. Después de 7 días de recuperación de la cirugía y de la anestesia, las ratas fueron habituadas una vez al día durante 5 min por un lapso de cuatro días antes de ser tratadas y evaluadas conductualmente. (Paxinus & Watson, 1986)

### **6.4. Microinyección.**

El día del experimento utilizando una bomba de microdiálisis (CMA/Microdialysis, Stockholm, Sweden) se administró aleatoriamente, y en forma bilateral 250 nl de salina ó de arginina vasopresina (1ng o 10 ng / lado) a través de cánulas de inyección (0.20 mm de diámetro externo (C315I, Plastics One) introducidas a las cánulas guía y de las que protruían un mm. Los compuestos fueron inyectados a lo largo de un período de 5 min. Las cánulas de inyección permanecieron 30 segundos en su sitio después del término de la inyección, con la intención de evitar el reflujo de la substancia administrada y permitir su correcta difusión. Las observaciones conductuales fueron iniciadas inmediatamente después del tratamiento.

## **6.5. Evaluaciones conductuales.**

La evaluación de la ansiedad, se llevó a cabo mediante la utilización de modelos no condicionados, controlando las variables experimentales (luz, temperatura, humedad), así como el tiempo de duración y el número de individuos. Cada una de las pruebas (laberinto elevado en cruz, enterramiento defensivo o campo abierto) fueron llevadas a cabo en un cuarto sono-amortiguado, en ausencia del experimentador y en un horario de 10:00 a 16:00 h. La conducta de los animales fue registrada de manera remota y video-grabada para su posterior evaluación.

## **6.6. Prueba de laberinto elevado en cruz.**

Tanto el dispositivo como la evaluación conductual fue llevada a cabo de acuerdo en lo descrito por Pellow y sus colaboradores (1985). El laberinto, construido de madera poseía dos brazos abiertos (50x10 cm) y dos cerrados (50x10x40 cm) que se interceptaban en un cuadrado central (10x10 cm). El dispositivo se encontraba elevado a 50 cm del suelo por medio de un pedestal. El nivel de iluminación durante la prueba fue de 5.1 luxes. Al comenzar la prueba, las ratas fueron colocadas en el cuadrado central del dispositivo con la vista dirigida hacia los brazos abiertos permitiéndoseles explorar libremente el laberinto por un periodo de cinco minutos. Durante ellos se registró el número de entradas a los brazos abiertos (expresado en porcentaje del número de entradas totales tanto a los brazos abiertos como a los cerrados), el tiempo de permanencia en los mismos (expresado en porcentaje del tiempo pasado en ambos tipos de brazos) así también el número de entradas totales a los brazos abiertos y cerrados. Como indicadores de ansiedad se tomó, tanto el número de entradas a los brazos abiertos del laberinto como el tiempo de permanencia en ellos. Una entrada a los brazos del laberinto se contabilizó una vez que las cuatro patas de la rata se colocaron dentro del brazo correspondiente.

### **6.7. Prueba de enterramiento defensivo.**

El procedimiento se realizó de acuerdo a Treit y colaboradores (1981) La prueba se llevo a cabo en una caja elaborada con material acrílico con medidas de 27x16x23 cm. El suelo se encontraba recubierto uniformemente por una cama de aserrín de pino de 5 cm de grosor. En una de las paredes del dispositivo, 2 cm por encima del nivel de la cama de aserrín, se colocó un electrodo electrificado a permanencia de 7 cm de largo y 0.5 cm de diámetro que generaban una descarga eléctrica de 0.4 mA cada vez que la rata lo tocaba con el hocico o las extremidades. La rata es colocada, al inicio de la prueba, en el extremo contrario al electrodo y se le permite explorar la caja por 10 min a partir de haber recibido el primer choque. Los experimentos se realizaron con una iluminación roja de 2,3 a 2.5 luxes. Durante la evaluación de la conducta se registraron como indicadores de ansiedad la latencia al primer episodio de enterramiento tras recibir el primer choque eléctrico, el número de choques recibidos y el tiempo total que pasó la rata enterrando al electrodo. El tiempo de enterramiento se tomó como una medida de ansiedad, la medida de latencia como índice de reactividad y el número de choques como una indicación del grado de molestia a la descarga eléctrica.

### **6.8. Prueba de campo abierto.**

Con la finalidad de descartar la influencia del AVP en la locomoción de las ratas, se sometió a estas al paradigma de campo abierto inmediatamente después de haber sido probadas en cualquiera de los modelos de ansiedad utilizados. La prueba de campo abierto se llevó a cabo en una caja de acrílico de 50x50x30 cm equipada con celdas fotoeléctricas, que detectaban los movimientos de los animales dentro de la caja mediante el registro del número de rompimientos de los haces de luz que ocurrían entre ellas (OMNIALVA, Ciudad de México). Cada una de las paredes del dispositivo contenía 10 celdas fotoeléctricas separadas entre si por un intervalo de 5 cm. Las celdas fueron colocadas a 4,0 cm por

encima del suelo. Para el registro de los movimientos de las ratas, la caja fue sincronizada con una PC que permitía estimar cuantitativamente el número de interrupciones de los haces de luz que ocurrían entre las fotoceldas. Dichas interrupciones fueron transformadas en eventos de locomoción con una frecuencia de muestreo de 10 Hertz. El nivel de iluminación en el interior de la caja fue de 138 luxes. Al comenzar la prueba, las ratas fueron colocadas en una de las esquinas de la caja y a continuación se les permitió explorarla libremente durante 5 min. Mediante el software OMNIALVA fue posible registrar los movimientos de la rata en la caja y determinar el tiempo de permanencia de las ratas tanto en su parte central como periférica (Prut & Belzung, 2003).

## **6.9. Evaluación Histológica.**

Una vez terminadas las pruebas de conducta, con objeto de verificar la correcta posición de las cánulas implantadas, los animales se anestesiaron profundamente con una sobredosis de pentobarbital sódico (65 mg por rata), y se les administró bilateralmente 250 nl de azul de Pontiamina a través de las cánulas de inyección usadas para la administración del AVP. Los cerebros fueron removidos y fijados en formaldehído al 10% durante una semana. Para protegerlos en contra de la congelación, los cerebros se sumergieron en soluciones de sacarosa con una concentración creciente (10%, 20% y 30%), permaneciendo en cada una de ellas por un tiempo mínimo de 24 h. Los cerebros fueron seccionados obteniéndose cortes coronales de 40  $\mu$ m mediante un criostato (CM 1510-3, Leica Instruments, Nussloch, Germany) a una temperatura de -19°C. Los cortes obtenidos fueron teñidos con violeta de cresilo y finalmente fueron montados en porta-objetos utilizando Permount. La posición de las cánulas fue determinada mediante la observación de las secciones teñidas con microscopio estereoscópico. Las ratas empleadas para el análisis estadístico fueron aquellas en las cuales las cánulas guía se situaron en el CeA o en su proximidad.

## 6.10. Análisis de Datos.

Los resultados obtenidos durante los experimentos se presentan como promedios  $\pm$  el error estándar. Debido a que el análisis de Kolmogoroff-Smirnof mostró que la muestra bajo estudio seguía una distribución normal (0.1600,  $P > 0.10$ ), se llevó a cabo estadística paramétrica para la evaluación de los datos. Para ello se empleó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguida de la prueba *post hoc* de Dunnet, que compara los distintos grupos en contra del control, cuando el valor de  $P < 0.05$  en el ANOVA. Los análisis fueron llevados a cabo utilizando el Software GraphPad Prisma 5.

## CAPITULO 7

### RESULTADOS

#### 7.1. Análisis histológico.

Los sitios de implantación de las cánulas fueron verificados microscópicamente (Fig. 12). Para el análisis de datos solo fueron incluidos aquellos animales en los cuales las puntas de las cánulas de microinyección se encontraban localizadas en el núcleo central de la amígdala (CeA) o próximas a él. Las ratas fueron eliminadas debido a posiciones incorrectas de las cánulas, evidencia de infección o signos de enfermedad. Finalmente se obtuvo un total de 63 animales, 34 en la prueba de laberinto elevado en cruz y 29 empleados en la prueba de enterramiento defensivo.

Tabla 5. Número de ratas totales empleadas

<b>Grupo</b>	<b>Laberinto elevado en cruz</b>	<b>Enterramiento defensivo</b>
<b>Solución salina (NaCl 0.9%)</b>	n = 12	n = 12
<b>Dosis 1 ng de AVP</b>	n = 9	n = 8
<b>Dosis 10 ng de AVP</b>	n = 13	n = 9
	Total = 34	Total = 29

Como puede observarse en la figura 13 la mayoría de las cánulas estuvieron localizadas en la amígdala anterior entre los niveles de Bregma -1.80 a -3.13 mm de acuerdo con el atlas de Paxinus y Watson (1986). La mayor parte de las cánulas estuvieron implantadas en el núcleo central (CeA) o sus cercanías.

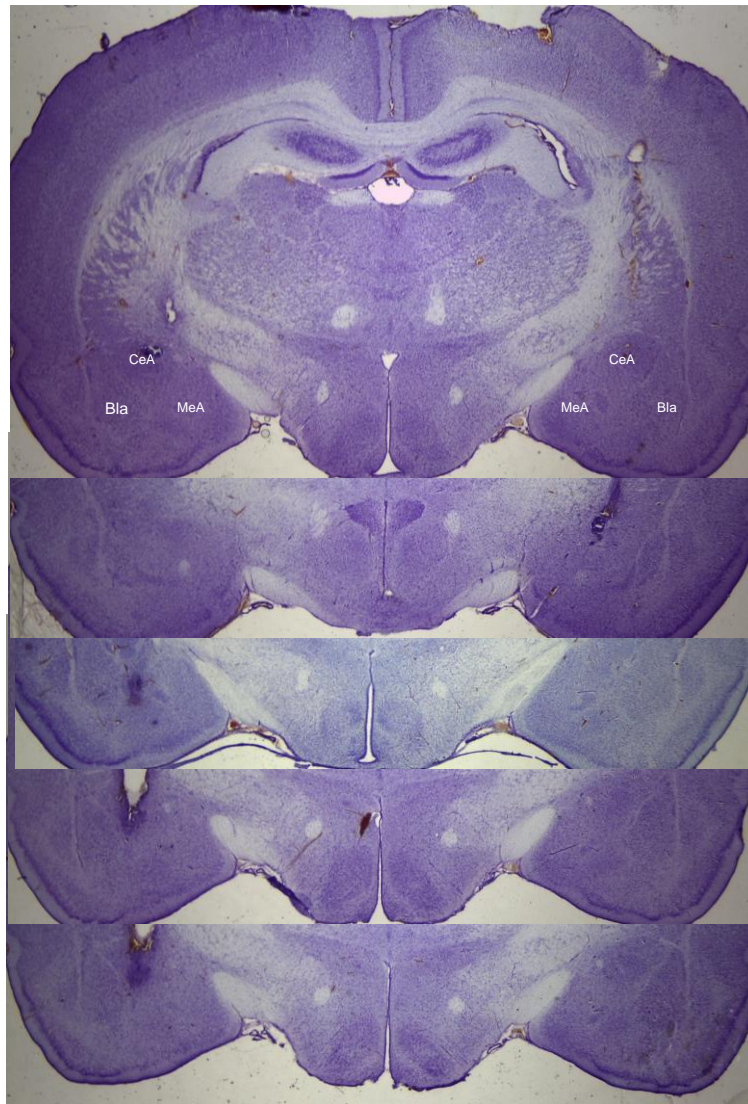


Figura 12. Localización de cánulas guía. Se observan cortes coronales de rata de 40  $\mu\text{m}$  de grosor, teñidos con violeta de cresilo. Es posible apreciar los núcleos amigdalinos: central (CeA), el complejo basolateral (Bla) y el núcleo medial (MeA), así como los sitios de implantación de las cánulas guía.

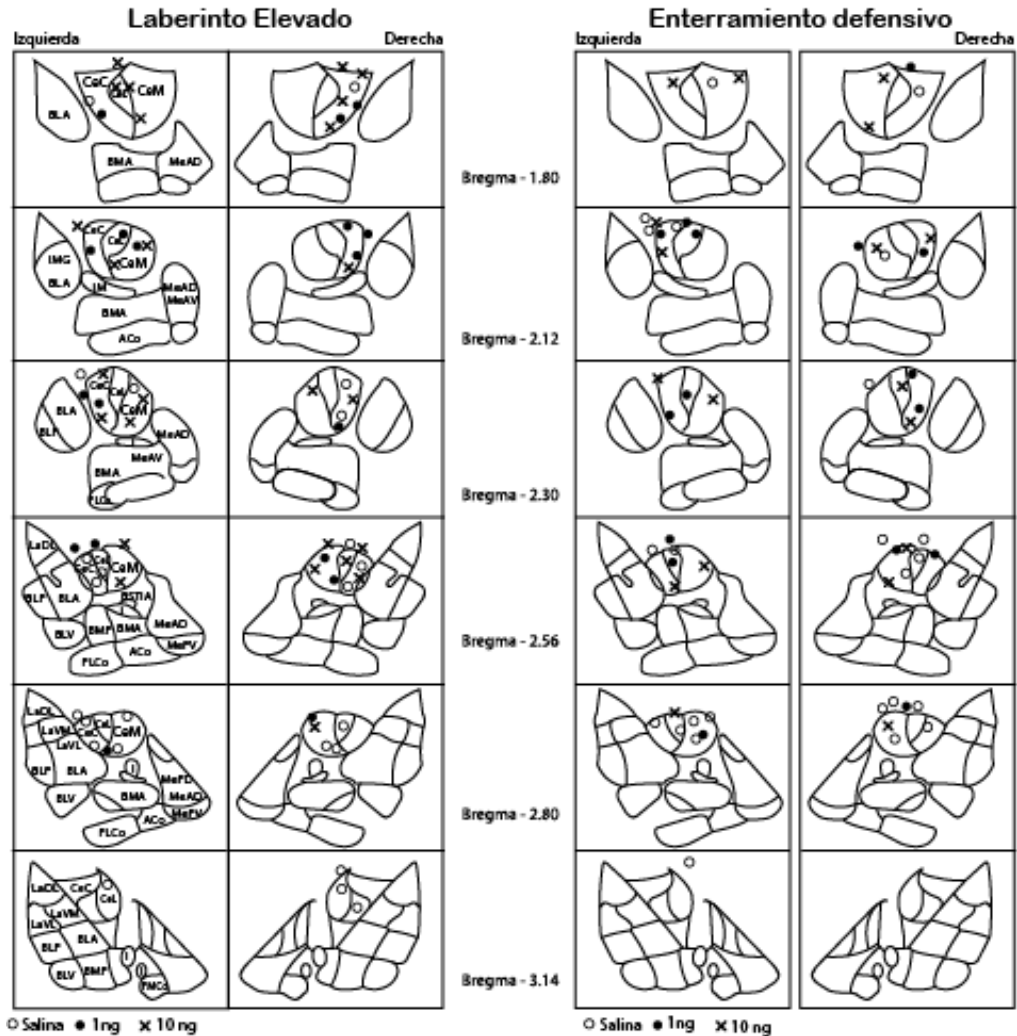


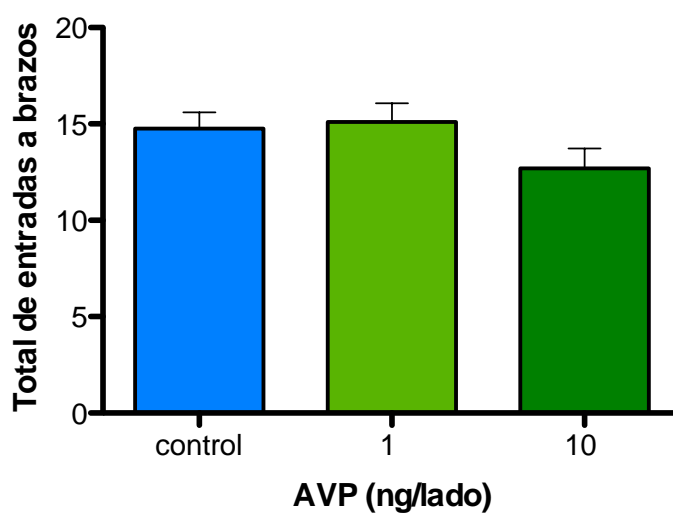
Figura 13. Representación esquemática de los sitios de implantación de las cánulas en el lado derecho e izquierdo de la amígdala en la prueba del laberinto elevado en cruz y de enterramiento defensivo. Los niveles estereotáxicos corresponden a lo establecido en el atlas de Paxinos de Paxinos y Watson (1986). Debido a la gran densidad de las puntas de las cánulas en algunas de las secciones, algunas se superponen. ACo, núcleo anterior cortical de la amígdala; BLA, núcleo basolateral amigdalino; BMA, núcleo amigdalino basomedial; CeL, núcleo central amigdalino, división lateral; CeM, núcleo central amigdalino, división medial; IM, isla intercalada principal; LA, amígdala lateral; MeA, núcleo medial amigdalino.



## 7.2. Análisis conductual en el laberinto elevado en cruz.

### 7.2.1. Número de entrada totales

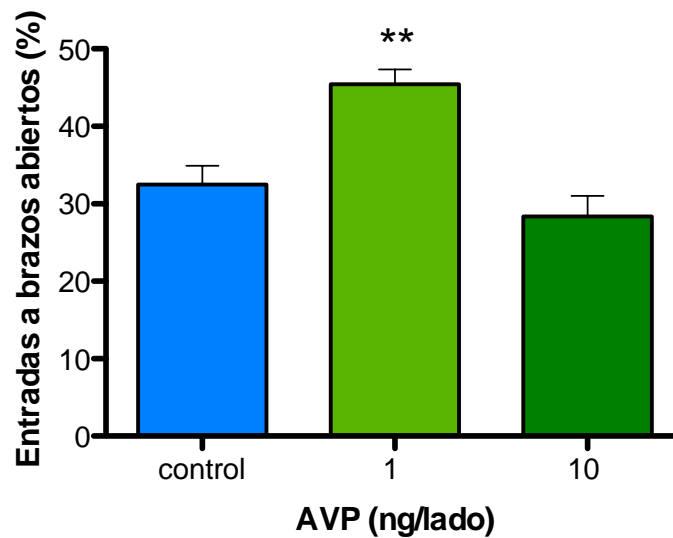
No existió una diferencia significativa en el número de entradas entre los grupos, ya que las ratas tratadas con AVP en sus dos dosis (1ng,10 ng) mostraron un porcentaje de entradas similar a las tratadas con solución salina en el grupo control (ANOVA:  $F_{(2, 31)} = 1.890$ ,  $P > 0.05$ ;  $n=34$ ).



**Figura 14. Efecto de AVP en el número total de entradas a brazos abiertos y cerrados en el laberinto en cruz.** La administración de AVP no mostró efectos significativos en el número de entradas totales en los grupos tratados con AVP en comparación con el grupo control, al que se le administró solución salina. Para el análisis estadístico se empleó una ANOVA de una vía ( $F_{(2, 31)} = 1.890$ ,  $P > 0.05$ ;  $n=34$ ) (Control:  $n=12$ ; AVP: 1ng:  $n=9$ ; 10ng:  $n=13$ ).

### 7.2.2. Número de entradas a brazos abiertos

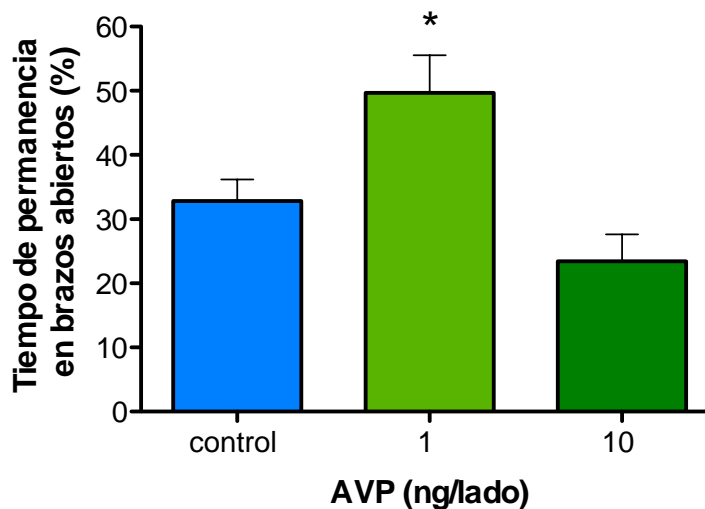
La administración bilateral intra-amigdalina de AVP (1ng/lado) produjo un aumento significativo en el número de entradas de las ratas a los brazos abiertos del laberinto (ANOVA:  $F_{(2, 31)} = 11.77$ ,  $P < 0.05$ ). Dicho efecto no se observó, sin embargo cuando dosis mayores (10ng/lado) de este compuesto fueron infundidas.



**Figura 15. Efecto de AVP en el número de entradas a los brazos abiertos del laberinto elevado en cruz.** La micro-inyección intra-amigdalina de AVP (1ng/lado) en el núcleo central (CeA) aumentó de manera significativa el número de entradas de las ratas a los brazos abiertos del laberinto elevado en cruz en comparación con el grupo control. Los resultados son expresados como medias con su respectivo error estándar. Se empleó una ANOVA de una vía para el análisis de varianza (ANOVA:  $F_{(2, 31)} = 11.77$ ,  $P < 0.05$ ;  $n=34$ ) seguido de un análisis *post hoc* utilizando la prueba de Dunnett para identificar diferencias con respecto al control. \* =  $P < 0.05$ . Control:  $n=12$ ; AVP: 1ng:  $n=9$ ; 10ng:  $n=13$ .

### 7.2.3. Tiempo de permanencia en los brazos abiertos

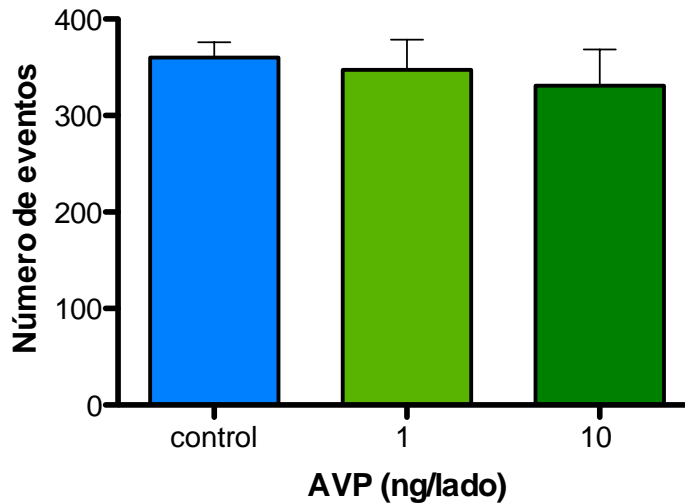
Tras la administración de AVP fue posible observar cambios en el comportamiento de las ratas en este parámetro del laberinto en relación con el grupo control. Así, las ratas tratadas con una dosis bilateral de 1 ng de AVP por lado exhibieron un mayor tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto. Sin embargo, no se encontraron efectos sobre este parámetro cuando se utilizó una dosis mayor (10ng/lado) de AVP. (ANOVA:  $F_{(2, 31)} = 8.506$ ,  $P < 0.05$ ) (Fig. 16).



**Figura 16. Efecto de AVP en el tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto elevado en cruz.** La micro-inyección intraamigdalina de AVP en su dosis de 1 ng / lado en el núcleo central (CeA), influyó de manera significativa en el tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto aumentando el tiempo de permanencia de las ratas en dichos brazos. Para la evaluación estadística se empleó una ANOVA de una vía para el análisis de varianza (ANOVA:  $F_{(2, 31)} = 8.506$ ,  $P < 0.05$ ;  $n=34$ ) seguido de un análisis *post hoc* utilizando la prueba de Dunnett para identificar diferencias con respecto al control. \* =  $P < 0.05$ . (Control:  $n=12$ ; AVP: 1ng:  $n=9$ ; 10ng:  $n=13$ ).

#### 7.2.4. Prueba de campo abierto

No se observaron efectos significativos de la AVP sobre este parámetro (Fig.17) de acuerdo a la prueba de ANOVA practicado (ANOVA:  $F_{(2, 31)} = 0.2564$ ,  $P > 0.05$ ;  $n=34$ ).

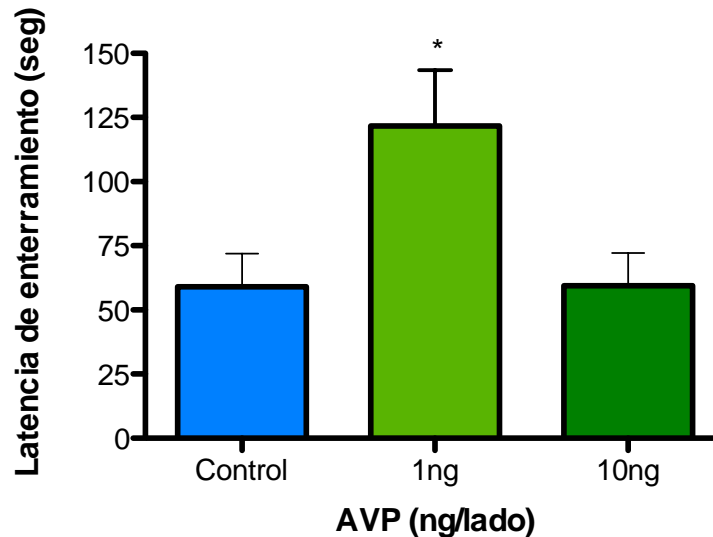


**Figura 17. Efectos de AVP en la prueba del campo abierto.** No existen diferencias significativas en la locomoción de los animales en la prueba del campo abierto cuando esta fue medida como el número de veces que se interrumpió un haz de luz entre dos celdas fotoeléctricas (eventos). ANOVA ( $F_{(2,31)} = 0.2564$ ,  $P > 0.05$ ;  $n=34$ ). Control:  $n=12$ ; AVP: 1ng:  $n=9$ ; 10ng:  $n=13$ .

### 7.3. Análisis conductual en la prueba de enterramiento defensivo.

#### 7.3.1. Latencia de enterramiento

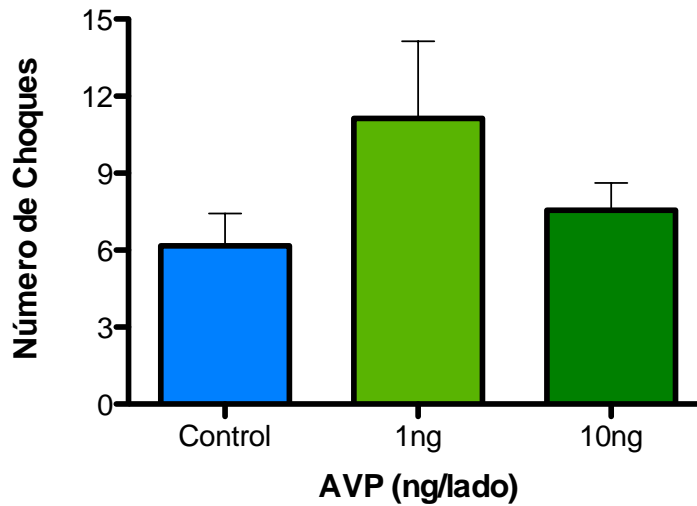
Como puede observarse en la Fig. 18, hubo un incremento en la latencia de las ratas a enterrar el electrodo usado en esta prueba, con respecto al valor del grupo control, tras de haber recibido un choque eléctrico, cuando la dosis de AVP infundida bilateralmente fue de 1 ng/lado. No se registraron, sin embargo, efectos cuando la dosis de AVP se incrementó a 10ng/lado. (ANOVA:  $F_{(2,26)} = 4.881$ ,  $P < 0.05$ ;  $n = 29$ ).



**Figura 18. Efecto de la administración bilateral intra-amigdalina de AVP en la latencia a presentar la conducta de enterramiento.** La dosis de 1 ng/lado de AVP indujo un incremento en el tiempo de latencia a iniciar la conducta de enterramiento, en comparación con el encontrado en el grupo control al que se le administro solución salina (SSF). Los resultados son expresados como medias error estándar. Prueba de Dunnet: \* =  $P < 0.05$  con respecto al grupo control. Control:  $n = 12$ ; AVP: 1ng:  $n = 8$ ; 10ng:  $n = 9$ .

### 7.3.2. Número de choques

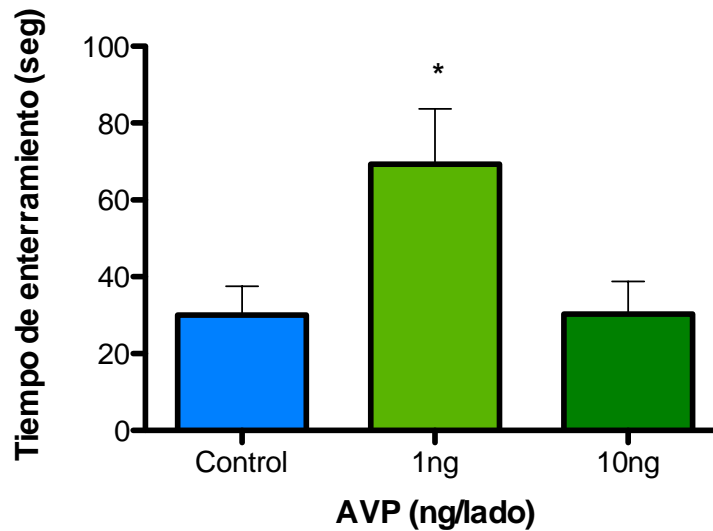
No se observaron diferencias en el número de choques recibidos entre los grupos evaluados en la prueba del enterramiento defensivo. (ANOVA:  $F_{(2,26)}=1.951$ ,  $P>0.05$ ;  $n=29$ ).



**Figura 19. Efecto de la administración bilateral intra-amigdalina de AVP en el número de choques.** La micro-inyección intra-amigdalina de AVP en el núcleo central (CeA) no mostro efectos significativos en el número de choques recibidos durante la prueba. Para el análisis estadístico se empleó un ANOVA de una vía ( $F_{(2, 26)} = 1.951$ ,  $P<0.05$ ;  $n=29$ ). Control:  $n=12$ ; AVP: 1ng:  $n=8$ ; 10ng:  $n=9$ .

### 7.3.3. Tiempo de enterramiento

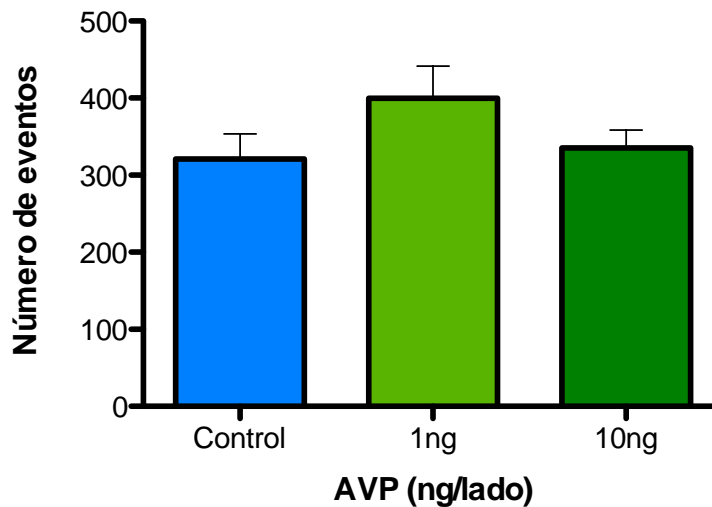
Como muestra la Fig. 20, la administración de AVP dentro de la amígdala indujo un aumento en el tiempo de enterramiento en la prueba del enterramiento defensivo (ANOVA:  $F_{(2,26)} = 4.743$ ,  $P < 0.05$ ). El efecto, sin embargo, solo se observó a la dosis de 1 ng/lado, perdiéndose dicho efecto cuando la dosis se incrementó a 10 ng/lado.



**Figura 20. Efecto de la administración bilateral intra-amigdalina de AVP en el tiempo de enterramiento.** La administración de 1ng / lado incrementó de manera significativa el tiempo de enterramiento, que en comparación del grupo control se duplicó. Los resultados son expresados como medias con su respectivo error estándar. Para el análisis estadístico se empleó un ANOVA de una vía para el análisis de varianza (ANOVA:  $F_{(2,26)} = 4.743$ ,  $P < 0.05$ ;  $n=29$ ) seguido de un análisis *post hoc* utilizando la prueba de Dunnett para identificar diferencias de los grupos tratados con respecto al control. \* =  $P < 0.05$ . Control:  $n=12$ ; AVP: 1ng:  $n=8$ ; 10ng:  $n=9$ .

### 7.3.4. Locomoción

Tras finalizar la prueba de enterramiento defensivo, las ratas fueron sometidas al campo abierto para evaluar los efectos del AVP sobre su locomoción (Fig.21). Los resultados mostraron que tanto las ratas control como aquellas a las que se les administró AVP (1 ng y 10 ng) presentaron un número de eventos similares que no resultaron estadísticamente significativos. (ANOVA:  $F_{(2,26)} = 1.485$ ,  $P > 0.05$ ;  $n = 29$ ).



**Figura 21. Efectos de AVP en la locomoción de los animales en el campo abierto.** Se observa que los tres grupos usados presentan valores similares en el número de eventos obtenidos en esta prueba de motricidad. No existe diferencia significativa en ninguno de los dos grupos tratados con AVP en relación con el grupo control. (ANOVA:  $F_{(2,26)} = 1.485$ ,  $P > 0.05$ ;  $n = 29$ ). Control:  $n = 12$ ; AVP: 1ng:  $n = 8$ ; 10ng:  $n = 9$ .



## CAPITULO 8

### DISCUSIÓN

Existe evidencia experimental de diversa naturaleza que señala que la AVP participa de forma importante en la modulación de la ansiedad. Así, los resultados de Williams y colaboradores (1983) indican que en las ratas Brattelboro, que tienen mutado el gen que codifica para la AVP, los niveles de ansiedad son bajos. Asimismo, la expresión del gen para la AVP se encuentra incrementada en el hipotálamo de ratas cruzadas para producir un fenotipo de alta ansiedad en relación con aquellas que no lo poseen ó tienen un fenotipo de baja ansiedad (Landgraf et al., 2007). Por otro lado, ha sido observado que la administración sistémica de desmopresina, un agonista vasopresinérgico (Mak et al., 2012) disminuye la exploración de los brazos abiertos del LEC sugiriendo que este neurotransmisor ejerce efectos ansiogénicos (Mak et al., 2012) (ver la sección: “Arginina-vasopresina y su relación con la ansiedad”). Más aún la administración intra-cerebro-ventricular de AVP resulta en la producción de efectos ansiogénicos en el LEC (Bhattacharya et al., 1998) tanto en ratas como en ratones ovariectomizados pre-tratados con estradiol (McCarthy, et al.,1996). En línea con lo anterior, ha sido también reportado que en humanos la liberación de AVP inducida por la administración de colecistoquinina-4 es acompañada de síntomas de ansiedad (Abelson et al, 2001).

A pesar de que estudios llevados a cabo mediante la microinfusión de antagonistas para los receptores V1a y V1b (Everts & Koolhaas 1999; Liebsch et al., 1996; Appenrodt et al., 1998; Stemmelin et al., 2005; Salomé et al., 2006; (Engin & Treit, 2008) o del uso de oligonucleótidos anti-sentido (Landgraf et al., 1995), que indican que tanto el septum lateral (LS) (Everts & Koolhaas, 1999) Liebsch et al., 1996; Appenrodt et al., 1998; Stemmelin et al. 2005), como el hipocampo (Engin & Treit, 2008) y probablemente la amígdala (Salomé et al., 2006) participan en los efectos de la AVP en la modulación de la ansiedad, el sitio anatómico de su acción no ha sido aún bien determinado.

Los hallazgos del presente trabajo de tesis enfatizan la participación de la amígdala en los efectos de la AVP y muestran la complejidad que dicho neurotransmisor tiene en la modulación de la ansiedad por parte de esta estructura.

Los resultados de este trabajo muestran que en la rata, dependiendo del paradigma de ansiedad utilizado, la administración bilateral, intra-amigdalina de AVP resulta en la aparición de efectos ya sean ansiogénicos o ansiolíticos. Así, en el enterramiento defensivo (ED), que explota la tendencia natural de los roedores a enterrar todo aquel objeto que les pudiera producir daño (De Boer & Koolhaas, 2003), este neurotransmisor, a dosis bajas, produjo un aumento en el tiempo empleado por las ratas en enterrar el electrodo electrificado usado en esta prueba, en relación al mostrado por aquellos animales inyectados con solución salina únicamente. Cabe señalar, que como lo indican los experimentos control realizados, los efectos de la AVP observados sobre este parámetro no resultan de cambios en el estado general del animal ni de efectos producidos por los choques eléctricos recibidos, pues bajo las mismas condiciones experimentales no se observaron efectos sobre el estado locomotor de los animales ni tampoco cambios en el número de choques recibidos respectivamente.

A pesar que los efectos sobre la conducta de enterramiento son claros, la latencia para iniciar la conducta de enterramiento fue mayor que la de los controles, indicando una menor reactividad de estos hacia los choques recibidos. Dicho resultado pudiera estar relacionada con los efectos que la AVP tiene sobre la percepción del dolor, pues ha sido reportado que su administración intra-cerebro ventricular (Zubrzycka & Janecka, 2005) o intra-amigdalina (Ahn et al., 2001) genera efectos analgésicos en la región oro-facial. Bajo estas condiciones, es muy posible que la intensidad de los choques recibidos haya sido atenuada disminuyendo la reactividad de los animales y aumentado así la latencia de la conducta de enterramiento en relación a la de los controles.

Llama por otro lado la atención, que los efectos ansiogénicos de la AVP solo se observaron a dosis bajas (1ng/lado) y desaparecieron a dosis más elevadas

(10ng/lado). A pesar que no se tiene una explicación completamente válida para estos efectos, es posible que hayan sido producidos a consecuencia de una pérdida en la selectividad de la AVP por sus receptores. Dado su parecido estructural con la oxitocina (OT) es posible que la AVP se haya ligado al receptor de este neurotransmisor produciendo efectos ansiolíticos, opuestos a los observados a dosis bajas, cuando solo ha reconocido a sus propios receptores. En apoyo de lo anterior, cabe señalar que tanto la AVP como la OT son nonapétidos que difieren solo en la naturaleza de dos aminoácidos (posiciones 3 y 8) (Manning et al., 2012), que la AVP muestra la misma afinidad tanto para sus receptores como para los de la OT (Mouillac et al., 1995) y que en los mamíferos la AVP y la OT tienen efectos opuestos sobre la ansiedad (Neumann & Landgraf, 2012). Alternativamente, la unión de la AVP a su receptor pudiera haber dado lugar a la formación de heterodímeros constituidos por la asociación de receptores para la AVP y la OT dentro de la membrana neuronal con propiedades diferentes, en los que los efectos ansiolíticos de la OT fueran predominantes (Terrillon et al., 2003).

En contraste con los efectos ansiogénicos de la AVP descritos en los párrafos anteriores, cuando las acciones de este neurotransmisor sobre la modulación amigdalina de la ansiedad fueron estudiados en el LEC, los efectos observados fueron ansiolíticos. Así, la administración bilateral intra-amigdalina de la AVP aumentó tanto el número de entradas de las ratas a los brazos abiertos del laberinto como el tiempo que permanecieron en ellos, indicando así, la producción de efectos ansiolíticos, pues como se indicó antes, el LEC explota la tendencia natural de los roedores a no exponerse a espacios abiertos carentes de señales o claves tigmotácticas, que implican contacto físico en su entorno, como es el caso de los brazos abiertos del laberinto.

Como en el caso del enterramiento defensivo, los efectos de la AVP sobre la exploración del laberinto no pueden tampoco atribuirse a cambios en la locomoción del animal, pues a las dosis usadas en este trabajo, no se observaron cambios en la exploración conjunta de sus brazos abiertos más los cerrados, que representa una medida intrínseca de locomoción en este paradigma (Pellow et al.,

1985; Rodgers & Johnson, 1995), ni tampoco cuando la locomoción del animal fue medida en un campo abierto, inmediatamente después de la exploración del laberinto. Como en el caso del enterramiento defensivo, la AVP solo ejerció sus efectos a dosis bajas, perdiéndose estos cuando la dosis fue incrementada. Una explicación similar a la ofrecida en el caso del enterramiento defensivo, pero operando en el sentido de la ansiólisis pudiera también ser invocada en este caso.

Es interesante a este respecto, que Appendrodt y colaboradores (1998) encontraron que la infusión de AVP dentro del septum lateral (LS) produjo, como en nuestro caso, efectos ansiolíticos en el LEC. Sin embargo, dado que la infusión de este neurotransmisor fue realizada a lo largo de 30 minutos utilizando cánulas de microdiálisis y el grado de difusión de la AVP encontrado fue grande, no puede descartarse que pequeñas cantidades de este neurotransmisor hayan alcanzado el CeA produciendo efectos ansiolíticos. En apoyo de lo anterior Liebschy colaboradores, (1996), utilizando la misma técnica, no encontraron efectos de la AVP en el LEC cuando esta fue infundida en el LS a diferencia de lo encontrado por Appendrodt y sus colaboradores (1998).

La razón por la cual la administración de la AVP en la amígdala tuvo efectos ansiolíticos en el LEC y ansiogénicos en el ED resulta difícil de explicar. Sin embargo, cabe señalar, que esta dicotomía no es única pues bajo numerosas circunstancias experimentales se han encontrado efectos diferentes entre estos dos paradigmas indicando que no son equivalentes desde el punto de vista conductual y que muy probablemente modelan facetas distintas de la ansiedad (véase Menard & Treit, 1999; Merritt et al., 2001; Flores-Gracia et al., 2010;) para una amplia discusión sobre el tema). Es digno hacer notar a este respecto, que al igual de lo que ocurrió en este trabajo, la administración intra-septal del antagonista  $d(\text{CH}_2)_5\text{-D-Tyr}(\text{Et})\text{VAVP}$  en el LS tuvo efectos diferenciales que dependieron del paradigma conductual empleado, pues su administración produjo efectos ansiolíticos en el LEC, pero no tuvo efectos en el ED (Everts & Koolhass, 1999). Efectos similares en ambas pruebas fueron reportados también en el hipocampo (Engin & Treit, 2008) tras el bloqueo específico de los receptores los

receptores V1a o V1b. Más aún, en esta región la disociación de los efectos fue doble, pues el bloqueo de los receptores V1a en el hipocampo ventral, pero no el de los V1b, tuvo efectos ansiolíticos en el LEC, en tanto que en el hipocampo dorsal solo el bloqueo de los receptores V1b tuvo efectos ansiogénicos. Con base en lo anteriormente discutido, no resulta sorprendente, que dada la complejidad de la amígdala y de su papel central en la integración de las respuestas ansiosas (LeDoux, 2000; 2003; 2007), el papel de la AVP en la modulación de la ansiedad por parte de esta estructura pudiera ser dual y no tan solo ansiogénico o ansiolítico, como parece ocurrir en el LS o el hipocampo (Engin & Treit, 2008).

Dado que nuestras cánulas estuvieron ubicadas, en su mayor parte, dentro o cercanas al CeA y los receptores V1a y V1b están co-localizados dentro de este núcleo (Szot et al., 1994; Hernando et al., 2001; Huber et al., 2005) resulta tentador, con base con lo discutido anteriormente, sugerir que los efectos encontrados en este trabajo (ansiolíticos en el LEC y ansiogénicos en el ED) dependan diferencialmente del tipo de receptor activado y de su papel en la modulación de los rasgos conductuales modelados por cada paradigma.

Los efectos ansiolíticos reportados por Salomé y sus colaboradores (2006) en el LEC tras el bloqueo de los receptores V1b por la administración del antagonista SSR-149415, específico para estos receptores es sorprendente, pues a diferencia de nuestros resultados sugiere un papel ansiogénico para la AVP en este modelo. Es posible, sin embargo, que como ocurre en el hipocampo (Engin & Treit, 2008) dichos efectos se encuentren mediados por una población distinta y minoritaria, pero conductualmente importante de receptores V1b localizados dentro del BLA, fuera del sitio de nuestras inyecciones, pues la administración de dicho antagonista bajo las condiciones experimentales utilizadas por Salomé y sus colaboradores (2006) solo tuvo efecto cuando se hizo en el BLA y no en CeA ó el MeA. Nuevos experimentos, en los que se estudien los efectos de la co-administración intra-amigdalina de AVP más antagonistas para los receptores V1a ó V1b, tanto en el LEC como en el enterramiento defensivo serán necesarios para probar o descartar nuestra hipótesis.

## **CAPITULO 9**

### **CONCLUSIONES**

Los resultados de este trabajo proporcionaron evidencias que la vasopresina tiene un papel complejo en la modulación amigdalina de la ansiedad de acuerdo con el modelo conductual utilizado, encontrando así, efectos ansiolíticos en el laberinto elevado en cruz y ansiogénicos en el enterramiento defensivo, tras su administración bilateral en el núcleo central de la amígdala.

Dado que dentro de dicho núcleo coexisten tanto receptores V1a como V1b es posible que los efectos de la AVP obtenidos en cada paradigma resulten de la activación diferencial de cada uno de estos receptores. Resulta pues necesario, en experimentos posteriores, mediante el uso de antagonistas selectivos para los receptores V1a y V1b esclarecer, el papel que cada uno de ellos tiene en estas conductas.

## LITERATURA

- Abelson, J.L., Le Melledo, J., & Bichet, D. G. (2001). Dose response of arginine vasopressin to the CCK-B agonist pentagastrin. *Neuropsychopharmacology*, 24(2), 161-169. doi: 10.1016/S0893-133X(00)00182-2
- Aguilera, G. (2011). HPA axis responsiveness to stress: implications for healthy aging. *Exp Gerontol*, 46(2-3), 90-95. doi: 10.1016/j.exger.2010.08.023
- Ahn, D. K., Kim, K. H., Ju, J. S., Kwon, S., & Park, J. S. (2001). Microinjection of arginine vasopressin into the central nucleus of amygdala suppressed nociceptive jaw opening reflex in freely moving rats. *Brain Research Bulletin*, 55(1), 117-121. doi: Doi 10.1016/S0361-9230(01)00493-2
- Alheid, G.F., De Olmos, J., & Beltramino, C.A. (1995). Amygdala and extended amygdala. In: *The Rat Nervous System. Paxinos*, 495–578.
- Alheid, G.F., & Heimer, L. . (1988). New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: the striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. . *Neuroscience*, 27, 1–39.
- Alonso, J., Angermeyer, M. C., Bernert, S., Bruffaerts, R., Brugha, T. S., Bryson, H., Vollebergh, W. A. (2004). Prevalence of mental disorders in Europe: results from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) project. *Acta Psychiatr Scand Suppl*(420), 21-27. doi: 10.1111/j.1600-0047.2004.00327.x
- Antoni, F. A. (1993). Vasopressinergic control of pituitary adrenocorticotropin secretion comes of age. *Front Neuroendocrinol*, 14(2), 76-122. doi: 10.1006/frne.1993.1004
- Appenrodt, E., Schnabel, R., & Schwarzberg, H. (1998). Vasopressin administration modulates anxiety-related behavior in rats. *Physiol Behav*, 64(4), 543-547.
- Bard, P. (1928). A diencephalic mechanism for the expression of rage with special reference to the sympathetic nervous system. *American Journal of Physiology*, 84(3), 490-515.
- Benelli, A., De Pol, A., Poggioli, R., Cavazzuti, E., Arletti, R., Bertolini, A., & Vergoni, A. V. (2000). L-sulpiride, at antidepressant dosage, prevents conditioned-fear stress-induced gastric lesions in rats. *Pharmacological Research*, 42(2), 157-160.
- Bhattacharya, S. K., Bhattacharya, A., & Chakrabarti, A. (1998). Anxiogenic activity of intraventricularly administered arginine vasopressin in the rat. *Biogenic Amines*, 14(4), 367-385.

- Bielsky, I.F., Hu, S.B., Szegda, K.L., Westphal, H., & Young, L.J. (2004). Profound impairment in social recognition and reduction in anxiety-like behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, 29(3), 483-493. doi: 10.1038/sj.npp.1300360
- Bohus, B., & de Wied, D. (1998). The vasopressin deficient Brattleboro rats: A natural knockout model used in the search for CNS effects of vasopressin. *Advances in Brain Vasopressin*, 119, 555-573.
- Bouton, M.E. & Bolles, R.C. (1980) Conditioned fear assessed by freezing and by the suppression of three different baselines. *Anim Learn Behav* 8(3):429–434.
- Buijs, R. M., Hermes, M. L. H. J., Kalsbeek, A., Vanderwoude, T., & Vanheerikhuize, J. J. (1991). Vasopressin Distribution, Origin and Functions in the Central-Nervous-System. *Third International Vasopressin Conference*, 208, 149-158.
- Caldwell, H. K., Lee, H. J., Macbeth, A. H., & Young, W. S., 3rd. (2008). Vasopressin: behavioral roles of an "original" neuropeptide. *Prog Neurobiol*, 84(1), 1-24. doi: 10.1016/j.pneurobio.2007.10.007
- Caldwell, H. K., & Young, W. S. (2006). Oxytocin and Vasopressin: Genetics and Behavioral Implications. In A. Lajtha & R. Lim (Eds.), *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology* (pp. 573-607): Springer US.
- Cannon, W. B. and Britton, S. W. (1925). Pseudoaffective medulliadrenal secretion. *Am. J. Physiol.*, 72, 283–294.
- Carrive, P. (2000). Conditioned fear to environmental context: cardiovascular and behavioral components in the rat. *Brain Res*, 858(2), 440-445.
- Castro-Sierra E., Chico P. de L. F. y Portugal R. A. (2005). Neurotransmisores del sistema límbico. I: Amígdala. Primera parte. *Salud Mental* 28(6): 27-32.
- Dalgleish, T. (2004). The emotional brain. *Nature Reviews*, 5, 582-589.
- Davis, M., & Whalen, P. J. (2001). The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular Psychiatry*, 6(1), 13-34. doi: Doi 10.1038/Sj.Mp.4000812
- De Boer, S. F., & Koolhaas, J. M. (2003). Defensive burying in rodents: ethology, neurobiology and psychopharmacology. *Eur J Pharmacol*, 463(1-3), 145-161.
- De Celis, R. (2007). *Investigación en neurociencias. Homenaje al Dr. Alfredo Feria Velasco*. Editorial Bios-médica, México, D.F.
- De la Mora, M. P., Gallegos-Cari, A., Arizmendi-Garcia, Y., Marcellino, D., & Fuxe, K. (2010). Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of



- fear and anxiety: Structural and functional analysis. *Prog Neurobiol*, 90(2), 198-216. doi: 10.1016/j.pneurobio.2009.10.010
- De Olmos, J. S., & Heimer, L. (1999). The concepts of the ventral striatopallidal system and extended amygdala. *Ann N Y Acad Sci*, 877, 1-32.
- Debiec, J., & LeDoux, J. (2004). Fear and the Brain. *Social Research*, 71(4), 807-818.
- DSM V, 2013. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fifth edition Ed. American Psychiatric Association, Washington, DC.
- Ebner, K., Wotjak, C. T., Holsboer, F., Landgraf, R., & Engelmann, M. (1999). Vasopressin released within the septal brain area during swim stress modulates the behavioural stress response in rats. *European Journal of Neuroscience*, 11(3), 997-1002.
- Egashira, N., Tanoue, A., Matsuda, T., Koushi, E., Harada, S., Takano, Y. & Fujiwara, M. (2007). Impaired social interaction and reduced anxiety-related behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice. *Behav Brain Res*, 178(1), 123-127. doi: 10.1016/j.bbr.2006.12.009
- Engelmann, M., Landgraf, R., & Wotjak, C. T. (2004). The hypothalamic-neurohypophysial system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: An old concept revisited. *Front Neuroendocrinol*, 25 (3-4), 132-149. doi: Doi 10.1016/J.Yfrne.2004.09.001
- Engelmann, M., Ludwig, M., & Landgraft, R. (1994). Simultaneous monitoring of intracerebral release and behavior: endogenous vasopressin improves social recognition. *J Neuroendocrinol*, 6(4), 391-395.
- Engin, E., & Treit, D. (2008). Dissociation of the anxiolytic-like effects of Avpr1a and Avpr1b receptor antagonists in the dorsal and ventral hippocampus. *Neuropeptides*, 42(4), 411-421. doi: 10.1016/j.npep.2008.04.004
- Everts, H. G., & Koolhaas, J. M. (1999). Differential modulation of lateral septal vasopressin receptor blockade in spatial learning, social recognition, and anxiety-related behaviors in rats. *Behav Brain Res*, 99(1), 7-16.
- Flores-Gracia, C., Nuche-Bricaire, A., Crespo-Ramirez, M., Miledi, R., Fuxe, K., & Perez de la Mora, M. (2010). GABA(A) rho receptor mechanisms in the rat amygdala and its role in the modulation of fear and anxiety. *Psychopharmacology (Berl)*, 212(4), 475-484. doi: 10.1007/s00213-010-1973-x
- Garakani, A., Mathew, S. J., & Charney, D. S. (2006). Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. *Mt Sinai J Med*, 73(7), 941-949.

- Gold, P. W., Goodwin, F. K., & Reus, V. I. (1978). Vasopressin in Affective-Illness. *Lancet*, 1(8076), 1233-1236.
- Gómez, C. , Saldívar-González, J.A., & Rodríguez, R. (2002). Modelos Animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica. . *Salud Mental* 25(1), 14-25.
- Griebel, G., & Holmes, A. (2013). 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 12(9), 667-687. doi: 10.1038/nrd4075
- Hallbeck, M., Hermanson, O., & Blomqvist, A. (1999). Distribution of preprovasopressin mRNA in the rat central nervous system. *Journal of Comparative Neurology*, 411(2), 181-200.
- Hernando, F., Schoots, O., Lolait, S. J., & Burbach, J. P. H. (2001). Immunohistochemical localization of the vasopressin V1b receptor in the rat brain and pituitary gland: Anatomical support for its involvement in the central effects of vasopressin. *Endocrinology*, 142(4), 1659-1668. doi: Doi 10.1210/En.142.4.1659
- Holt, N. F., & Haspel, K. L. (2010). Vasopressin: a review of therapeutic applications. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 24(2), 330-347. doi: 10.1053/j.jvca.2009.09.006
- Huber, D., Veinante, P., & Stoop, R. (2005). Vasopressin and oxytocin excite distinct neuronal populations in the central amygdala. *Science*, 308(5719), 245-248. doi: 10.1126/science.1105636
- Johnston, J. B. (1923). Further contributions to the study of the evolution of the forebrain. *Journal of Comparative Neurology*, 35(5), 337-481. doi: Doi 10.1002/Cne.900350502
- Jones, B., & Mishkin, M. (1972). Limbic lesions and the problem of stimulus--reinforcement associations. *Exp Neurol*, 36(2), 362-377.
- Karplus, J. P., & Kreidl, A. (1927). The brain and sympathicus. VII. Announcement. On relationships of hypothalamus centres to blood pressure and interior secretion. *Pflugers Archiv Fur Die Gesamte Physiologie Des Menschen Und Der Tiere*, 215, 667-670. doi: Doi 10.1007/Bf01731342
- Keck, M. E., Wigger, A., Welt, T., Muller, M. B., Gesing, A., Reul, J. M. & Neumann, I. D. (2002). Vasopressin mediates the response of the combined dexamethasone/CRH test in hyper-anxious rats: implications for pathogenesis of affective disorders. *Neuropsychopharmacology*, 26(1), 94-105. doi: 10.1016/S0893-133X(01)00351-7
- Keck, M. E., Welt, T., Muller, M. B., Uhr, M., Ohl, F., Wigger, A. & Landgraf, R. (2003). Reduction of hypothalamic vasopressinergic hyperdrive contributes to clinically relevant behavioral and neuroendocrine effects of chronic paroxetine treatment in a

- psychopathological rat model. *Neuropsychopharmacology*, 28(2), 235-243. doi: 10.1038/sj.npp.1300040
- Kessler, R. C. (2007). The global burden of anxiety and mood disorders: Putting the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) findings into perspective. *Journal of Clinical Psychiatry*, 68, 10-19.
- Klüver, H., & Bucy, P. C. (1937). "Psychic blindness" and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. *Am. J. Physiol.*, 119, 352-353.
- Landgraf, R., Gerstberger, R., Montkowski, A., Probst, J. C., Wotjak, C. T., Holsboer, F., & Engelmann, M. (1995). V1 vasopressin receptor antisense oligodeoxynucleotide into septum reduces vasopressin binding, social discrimination abilities, and anxiety-related behavior in rats. *J Neurosci*, 15(6), 4250-4258.
- Landgraf, R., & Neumann, I. D. (2004). Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. *Front Neuroendocrinol*, 25(3-4), 150-176. doi: Doi 10.1016/J.Yfrne.2004.05.001
- Landgraf, R., Kessler, M. S., Bunck, M., Murgatroyd, C., Spengler, D., Zimbelmann, M., Frank, E. (2007). Candidate genes of anxiety-related behavior in HAB/LAB rats and mice: focus on vasopressin and glyoxalase-I. *Neurosci Biobehav Rev*, 31(1), 89-102. doi: 10.1016/j.neubiorev.2006.07.003
- Laycock, JF. (2010). *Perspectives on Vasopressin*: World Scientific Pub Co Inc.
- LeDoux, J. E., Ruggiero, D. A., Forest, R., Stornetta, R., & Reis, D. J. (1987). Topographic organization of convergent projections to the thalamus from the inferior colliculus and spinal cord in the rat. *J Comp Neurol*, 264(1), 123-146. doi: 10.1002/cne.902640110
- LeDoux, J. E. (1996). *The Emotional Brain: The Mysterious Underpinnings of Emotional Life*. New York: Simon & Schuster Paperback.
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*, 23, 155-184. doi: 10.1146/annurev.neuro.23.1.155
- LeDoux, J. (2003). The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol*, 23(4-5), 727-738.
- LeDoux, J. E. (2007). The amygdala. *Current Biology*, 17(20), R868-R874.
- Leng, G., Brown, C. H., & Russell, J. A. (1999). Physiological pathways regulating the activity of magnocellular neurosecretory cells. *Prog Neurobiol*, 57(6), 625-655. doi: Doi 10.1016/S0301-0082(98)00072-0

- Liebsch, G., Wotjak, C. T., Landgraf, R., & Engelmann, M. (1996). Septal vasopressin modulates anxiety-related behaviour in rats. *Neuroscience Letters*, *217*(2-3), 101-104.
- Ludwig, M., Bull, P. M., Tobin, V. A., Sabatier, N., Landgraf, R., Dayanithi, G., & Leng, G. (2005). Regulation of activity-dependent dendritic vasopressin release from rat supraoptic neurones. *J Physiol*, *564*(Pt 2), 515-522. doi: 10.1113/jphysiol.2005.083931
- MacLean Pd. (1949). Psychosomatic disease and the visceral brain; recent developments bearing on the Papez theory of emotion. *Psychosom Med*, *11*(6), 338-353.
- Mak, P., Broussard, C., Vacy, K., & Broadbear, J. H. (2012). Modulation of anxiety behavior in the elevated plus maze using peptidic oxytocin and vasopressin receptor ligands in the rat. *Journal of Psychopharmacology*, *26*(4), 532-542. doi: Doi 10.1177/0269881111416687
- Makara, G. B., Mergl, Z., & Zelena, D. (2004). The role of vasopressin in hypothalamo-pituitary-adrenal axis activation during stress: an assessment of the evidence. *Ann N Y Acad Sci*, *1018*, 151-161. doi: 10.1196/annals.1296.018
- Manning, M., Misicka, A., Olma, A., Bankowski, K., Stoev, S., Chini, B., Guillon, G. (2012). Oxytocin and Vasopressin Agonists and Antagonists as Research Tools and Potential Therapeutics. *J Neuroendocrinol*, *24*(4), 609-628. doi: Doi 10.1111/J.1365-2826.2012.02303.X
- Maybauer, M. O., Maybauer, D. M., Enkhbaatar, P., & Traber, D. L. (2008). Physiology of the vasopressin receptors. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, *22*(2), 253-263.
- McCarthy, Margaret M., McDonald, Christelle H., Brooks, Phillip J., & Goldman, David. (1996). An Anxiolytic Action of Oxytocin is Enhanced by Estrogen in the Mouse. *Physiol Behav*, *60*(5), 1209-1215. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9384\(96\)00212-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9384(96)00212-0)
- McDonald, A. J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Neurobiol*, *55*(3), 257-332. doi: Doi 10.1016/S0301-0082(98)00003-3
- Medina-Mora, M. E., Borges, G., Benjet, C., Lara, C., & Berglund, P. (2007). Psychiatric disorders in Mexico: lifetime prevalence in a nationally representative sample. *British Journal of Psychiatry*, *190*, 521-528. doi: Doi 10.1192/Bjp.Bp.106.025841
- Menard, J., & Treit, D. (1999). Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*, *23*(4), 591-613.

- Merritt, N., Blewett, C., Miller, J. D., Bennett, W. F., Young, J. E. M., & Urschel, J. D. (2001). Survival after conservative (palliative) management of pleural malignant mesothelioma. *Journal of Surgical Oncology*, 78(3), 171-174.
- Millhouse, O. E. (1986). The Intercalated Cells of the Amygdala. *Journal of Comparative Neurology*, 247(2), 246-271. doi: Doi 10.1002/Cne.902470209
- Mouillac, B., Chini, B., Balestre, M. N., Jard, S., Barberis, C., Manning, M. (1995). Identification of agonist binding sites of vasopressin and oxytocin receptors. *Adv Exp Med Biol*, 395, 301-310.
- Murgatroyd, C., Wu, Y. H., Bockmuhl, Y., & Spengler, D. (2010). Genes learn from stress How infantile trauma programs us for depression. *Epigenetics*, 5(3).
- Neumann, I. D., & Landgraf, R. (2012). Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. *Trends Neurosci*, 35(11), 649-659. doi: 10.1016/j.tins.2012.08.004
- Neumann, I. D., Veenema, A. H., & Beiderbeck, D. I. (2010). Aggression and anxiety: social context and neurobiological links. *Front Behav Neurosci*, 4, 12. doi: 10.3389/fnbeh.2010.00012
- Nielsen, S., Frokiaer, J., Marples, D., Kwon, T. H., Agre, P., & Knepper, M. A. (2002). Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev*, 82(1), 205-244. doi: 10.1152/physrev.00024.2001
- Ostrowski, N. L., Lolait, S. J., & Young, W. S. (1994). Cellular localization of vasopressin V1a receptor messenger ribonucleic acid in adult male rat brain, pineal, and brain vasculature. *Endocrinology*, 135(4), 1511-1528. doi: 10.1210/endo.135.4.7925112
- Palomares-Castillo, E., Hernandez-Perez, O. R., Perez-Carrera, D., Crespo-Ramirez, M., Fuxe, K., & Perez de la Mora, M. (2012). The intercalated paracapsular islands as a module for integration of signals regulating anxiety in the amygdala. *Brain Res*, 1476, 211-234. doi: 10.1016/j.brainres.2012.03.047
- Pare, D., Quirk, G. J., & Ledoux, J. E. (2004). New vistas on amygdala networks in conditioned fear. *J Neurophysiol*, 92(1), 1-9. doi: 10.1152/jn.00153.2004
- Paxinus, G. & Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxical coordinates*. (Fourth ed.). San Diego, CA.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of Open - Closed Arm Entries in an Elevated Plus-Maze as a Measure of Anxiety in the Rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14(3), 149-167. doi: Doi 10.1016/0165-0270(85)90031-7

- Perez de la Mora, M., Lara-Garcia, D., Jacobsen, K. X., Vazquez-Garcia, M., Crespo-Ramirez, M., Flores-Gracia, C. & Fuxe, K. (2006). Anxiolytic-like effects of the selective metabotropic glutamate receptor 5 antagonist MPEP after its intra-amygdaloid microinjection in three different non-conditioned rat models of anxiety. *European Journal of Neuroscience*, 23(10), 2749-2759. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04798.x
- Perez de la Mora, M., Hernandez-Gomez, A. M., Arizmendi-Garcia, Y., Jacobsen, K. X., Lara-Garcia, D., Flores-Gracia, C., Fuxe, K. (2007a). Role of the amygdaloid cholecystinin (CCK)/gastrin-2 receptors and terminal networks in the modulation of anxiety in the rat. Effects of CCK-4 and CCK-8S on anxiety-like behaviour and [3H]GABA release. *Eur J Neurosci*, 26(12), 3614-3630. doi: 10.1111/j.1460-9568.2007.05963.x
- Pérez de la Mora, M., Flores-García, C., Crespo-Ramírez, M., Hernández-Gómez, A.M: y Lara-García, D.A. (2007b). La amígdala una estructura anatómica con relevancia para la ansiedad. In R. DeCelis (Ed.), *Investigación en neurociencias. Homenaje al Dr. Alfredo Feria Velasco* (pp. 169-175).
- Perez de la Mora, M., Jacobsen, K. X., Crespo-Ramirez, M., Flores-Gracia, C., & Fuxe, K. (2008). Wiring and volume transmission in rat amygdala. Implications for fear and anxiety. *Neurochem Res*, 33(8), 1618-1633. doi: 10.1007/s11064-008-9722-9
- Pinel, J. P. J. (2007). Biopsicología. *España: Pearson Addison Wesley*.
- Pitkänen, A. (2000). Connectivity of the rat amygdaloid complex. In: *The Amygdala: A Functional Analysis. Oxford Univ. Press* 31–115.
- Price, J.L. , Russchen, F.T., & Amaral, D.G. ( 1987). The Limbic Region. II: The Amygdaloid Complex. *Elsevier Science*.,
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*, 463(1-3), 3-33. doi: Doi 10.1016/S0014-2999(03)01272-X
- Rescorla R.A. & Holland, P.C. (1982) Behavioral studies of associative learning in animals. *Annu Rev Psychol* 33:265–308.
- Rodgers, R. J., & Johnson, N. J. (1995). Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, 52(2), 297-303.
- Rodgers, R. J. (1997). Animal models of 'anxiety': where next? *Behav Pharmacol*, 8(6-7), 477-496; discussion 497-504.

- Royer, S., Martina, M., & Pare, D. (1999). An inhibitory interface gates impulse traffic between the input and output stations of the amygdala. *J Neurosci*, *19*(23), 10575-10583.
- Sah, P., Faber, E. S. L., De Armentia, M. L., & Power, J. (2003). The amygdaloid complex: Anatomy and physiology. *Physiological Reviews*, *83*(3), 803-834. doi: Doi 10.1152/Physrev.00002.2003
- Sakaguchi, A., LeDoux, J.E. & Reis, D.J. (1983) Sympathetic nerves and adrenal medulla: Contributions to cardiovascular-conditioned emotional responses in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* *5*(5):728–738.
- Salome, N., Stemmelin, J., Cohen, C., & Griebel, G. (2006). Differential roles of amygdaloid nuclei in the anxiolytic- and antidepressant-like effects of the V1b receptor antagonist, SSR149415, in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, *187*(2), 237-244. doi: 10.1007/s00213-006-0424-1
- Schneiderman, N., Francis, J., Sampson, L.D. & Schwaber, J.S. (1974) CNS integration of learned cardiovascular behavior. *Limbic and Autonomic Nervous System Research*, ed DiCara LV (Plenum, New York), pp 277–309.
- Schlund, M.W. & Cataldo, M.F. (2010). Amygdala involvement in human avoidance, escape and approach behavior. *Neuroimage*, *53*(2): 769-776.
- Scott, L. V., & Dinan, T. G. (1998). Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: Implications for the pathophysiology of depression. *Life Sciences*, *62*(22), 1985-1998. doi: Doi 10.1016/S0024-3205(98)00027-7
- Selye, H., & Fortier, C. (1950). Adaptive reaction to stress. *Psychosom Med*, *12*(3), 149-157.
- Serradeil-Le Gal, C., Wagnon, J., Tonnerre, B., Roux, R., Garcia, G., Griebel, G., & Aulombard, A. (2005). An overview of SSR149415, a selective nonpeptide vasopressin V(1b) receptor antagonist for the treatment of stress-related disorders. *CNS Drug Rev*, *11*(1), 53-68.
- Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues Clin Neurosci*, *4*(3), 231-249.
- Stemmelin, J., Lukovic, L., Salome, N., & Griebel, G. (2005). Evidence that the lateral septum is involved in the antidepressant-like effects of the vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415. *Neuropsychopharmacology*, *30*(1), 35-42. doi: 10.1038/sj.npp.1300562

- Stoop, R. (2012). Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron*, 76(1), 142-159. doi: 10.1016/j.neuron.2012.09.025
- Sugimoto, T., Saito, M., Mochizuki, S., Watanabe, Y., Hashimoto, S., & Kawashima, H. (1994). Molecular cloning and functional expression of a cDNA encoding the human V1b vasopressin receptor. *J Biol Chem*, 269(43), 27088-27092.
- Swanson, L. W. (2000). Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior. *Brain Res*, 886(1-2), 113-164. doi: Doi 10.1016/S0006-8993(00)02905-X
- Swanson, L. W., & Petrovich, G.D. (1998). What is the amygdala? *Trends Neurosci*, 21(8), 323-331. doi: 10.1016/s0166-2236(98)01265-x
- Szot, P., Bale, T. L., & Dorsa, D. M. (1994). Distribution of messenger RNA for the vasopressin V1a receptor in the CNS of male and female rats. *Brain Res Mol Brain Res*, 24(1-4), 1-10.
- Taylor, S. P., Duvigneaud, V., & Kunkel, H. G. (1953). Electrophoretic Studies of Oxytocin and Vasopressin. *Journal of Biological Chemistry*, 205(1), 45-53.
- Terrillon, S., Durroux, T., Mouillac, B., Breit, A., Ayoub, M. A., Taulan, M., .Bouvier, M. (2003). Oxytocin and vasopressin V1a and V2 receptors form constitutive homo- and heterodimers during biosynthesis. *Mol Endocrinol*, 17(4), 677-691. doi: 10.1210/me.2002-0222
- Treit, D., Pinel, J. P., & Fibiger, H. C. (1981). Conditioned defensive burying: a new paradigm for the study of anxiolytic agents. *Pharmacol Biochem Behav*, 15(4), 619-626.
- Treschan, T. A., & Peters, J. (2006). The vasopressin system: physiology and clinical strategies. *Anesthesiology*, 105(3), 599-612; quiz 639-540.
- Villabona, C. (2010). Antagonistas del receptor de vasopresina: los vaptanes. *Endocrinología y Nutrición*, 57, Supplement 2(0), 41-52. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1575-0922\(10\)70021-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1575-0922(10)70021-8)
- Weiskrantz, L. (1956). Behavioral changes associated with ablation of the amygdaloid complex in monkeys. *J Comp Physiol Psychol*, 49(4), 381-391.
- Williams, A. R., Carey, R. J., & Miller, M. (1983). Behavioral differences between vasopressin-deficient (Brattleboro) and normal Long-Evans rats. *Peptides*, 4(5), 711-716.
- Wotjak, C. T., Ludwig, M., Ebner, K., Russell, J. A., Singewald, N., Landgraf, R., & Engelmann, M. (2002). Vasopressin from hypothalamic magnocellular neurons has



- opposite actions at the adenohipophysis and in the supraoptic nucleus on ACTH secretion. *European Journal of Neuroscience*, 16(3), 477-485.
- Zelena, D. (2012). Vasopressin in health and disease with a focus on affective disorders. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 12(4), 286-303.
- Zimmerman, E. A. (1976). Distribution of the neurophysin-vasopressin system in the mammalian hypothalamus. *Isr J Med Sci*, 12(9), 994-1003.
- Zingg, H. H. (1996). Vasopressin and oxytocin receptors. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 10(1), 75-96.
- Zubrzycka, M., & Janecka, A. (2005). Effects of centrally administered vasopressin on orofacial pain perception in rats. *Brain Res*, 1051(1-2), 112-116. doi: 10.1016/j.brainres.2005.05.058