



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**“CARACTERIZACIÓN DE LA CONECTIVIDAD FUNCIONAL CEREBRAL EN FUNCIÓN
DEL NIVEL DE ESTRÉS”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

DINA IATHZIL VÁZQUEZ CARRILLO

TUTORES

**DR. SARAEL ALCAUTER SOLÓRZANO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM**

**DR. FERNANDO A. BARRIOS ÁLVAREZ
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM**

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

**DR. LUIS CONCHA LOYOLA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM**

**DR. JOEL MARTÍNEZ SOTO
UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO**

MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE, 2016.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de mejorar mi educación académica, de igual manera al Instituto de Neurobiología campus Juriquilla que me abrió las puertas para llevar a cabo mi maestría

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por su apoyo y financiamiento. Numero de Becario: 330836, CVU: 531683.

A la Unidad de Resonancia Magnética junto a su personal siempre con tan buena disposición para brindarme su apoyo, al Dr. Erick Humberto Pasaye Alcaraz y al M. en C. Juan José Ortiz Retana.

Al Unidad de enseñanza y posgrado, a la Mtra. Leonor Casanova Rico por su invaluable ayuda en trámites académicos y aclaración de dudas, sin dejar de lado la importante labor de las secretarias Guadalupe Amador Uribe y Ma. Del Carmen Mendoza López.

A la biblioteca del campus, la unidad de cómputo y la unidad de video conferencias del Instituto de Neurobiología.

A mi tutor el Dr. Sarael Alcauter Solórzano por su infinita paciencia, atención, plena dedicación y conocimientos sobre el área de conectividad funcional, por su dirección para llevar a buen término mi tesis, por una excelente tutoría que ha contribuido a fortalecer mi educación académica.

Al Dr. Fernando A. Barrios Álvarez que me dio la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Análisis de Imagen funcional cerebral, su sabiduría e inteligencia siempre será un ejemplo a seguir.

A los miembros de mi comité académico el Dr. Luis Concha Loyola quien siempre tuvo sugerencias y comentarios constructivos sobre el proyecto; y al Dr. Joel Martínez Soto por su interés, aportes y significativa ayuda en la realización de este proyecto.

A los miembros del Laboratorio C12:

- M. en C. Leopoldo González que estuvo siempre con buena disposición y gran entusiasmo para ayudarme con los análisis de datos.
- Azalea que desde el primer tutorial siempre me dio muy buenos consejos.
- Pablo, el primo que encontré en Querétaro.
- Zeus por compartir sus conocimientos estadísticos.
- Edna por su compañerismo y apoyo especialmente con los trámites.
- Víctor por estar siempre que se me presentó un obstáculo en mi proyecto.

Al apoyo técnico del M. en C. Edgar Bolaños Aquino (técnico académico del laboratorio B-05 “Sistemas sensoriales y planeación motora” del Instituto de Neurobiología).

A mis compañeros de maestría y estudiantes de doctorado (en especial a Alan, América, César, Itza, Lluviana, Marianela, Melani, Min, Poncho, Raúl), que hicieron muy divertida y enriquecedora mi estancia en esta institución, un grupo lleno de diversidad ideológica que amplió mi perspectiva del mundo. A Chema, Mayra, Giovanna y Maricarmen por sus buenos consejos y los buenos momentos pero sobre todo gracias por ser tan buenos amigos.

A mi mamá por ser una fuente de inspiración y darme su apoyo sobre todo en los momentos más difíciles, sus palabras llenas de lógica y amor siempre me ayudaron a tomar una decisión, gracias por vivir conmigo esta experiencia.

A mi papá, mi maestro por excelencia, su filosofía de vida siempre ha sido un ejemplo a seguir para mí, gracias por comprenderme y apoyarme incondicionalmente, por enseñarme el valor de la humildad y el camino de la sencillez de corazón, la herencia más valiosa que pudiera recibir.

A mi entrañable amiga Bárbara, por siempre creer en mí y haberme impulsado a ir más allá de mis propias limitaciones, por su confianza y por ser para mí una fuente inagotable de sabiduría y sentido común.

A Ruth Minerva por su fe, cariño y apoyo.

A mis amigas Gaby, Itze, Judith y Victoria, por una amistad que ha permanecido desde la infancia y por sus palabras de ánimo y apoyo cada vez que las necesité.

A los participantes gracias a los que fue posible la elaboración de este proyecto.

A todos los miembros de mi familia que se encuentran en este árbol tengo un motivo específico y personal que agradecerles, además de expresarles mi sincero y respectivo cariño, respeto y admiración.



ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	2
1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	6
Estrés.....	6
Perspectivas teóricas del estrés.....	8
Estresores.....	9
Efectos por exposición a estrés.....	10
Áreas cerebrales involucradas en la respuesta a estrés.....	11
Amígdala.....	11
Proceso de restauración.....	12
Restauración psicológica.....	13
Dimensiones de la restauración psicológica ambiental.....	13
Ambientes restauradores.....	14
Correlatos neuronales de la restauración psicológica ambiental.....	16
Conectividad funcional.....	17
Resonancia Magnética.....	17
Conectividad funcional en estado de reposo y en estrés crónico y agudo.....	17
Conectividad funcional en estado de reposo ante condiciones de estrés agudo.....	19
3. Justificación.....	21
4. Objetivos.....	22
5. Hipótesis.....	23
6. Metodología.....	24
Participantes.....	24
Evaluación psicológica del nivel de estrés.....	24
Evaluación fisiológica durante el paradigma experimental.....	24
Entrevista.....	24
Paradigma experimental.....	25
Adquisición de imágenes de resonancia magnética.....	28
Pre-procesamiento de imágenes de resonancia magnética.....	29
Análisis estadístico.....	29
Análisis de prueba subjetiva de estrés.....	29
Análisis de medidas fisiológicas.....	30
Análisis de la conectividad funcional de la amígdala.....	30
Análisis de la conectividad funcional de la amígdala por grupo.....	31

7. Resultados.....	33
Estrés subjetivo.....	33
Medidas fisiológicas.....	35
Conectividad funcional de la amígdala.....	37
Conectividad funcional de la amígdala por grupo después del estímulo restaurativo.....	39
8. Discusión.....	40
9. Limitaciones.....	45
10. Conclusión.....	46
11. Referencias.....	47
Abreviaciones.....	57
Índice de figuras.....	58
Índice de tablas.....	59
Apéndices.....	60
A. Resultados estadísticos del nivel de estrés.....	60
B. Resultados de conectividad funcional de la amígdala.....	60

RESUMEN

Vivimos en una época donde el estrés generado por las actividades rutinarias de los estilos de vida actuales permanece constante, convirtiéndose en una condición crónica que afecta el bienestar de la sociedad. Esta tendencia suele verse reflejada mayormente en aquellos espacios urbanos caóticos y estresantes en donde las personas experimentan poco o nulo acceso a la naturaleza. En contraste, diversas teorías sugieren que los espacios urbanos con áreas verdes tienden a disminuir el estrés crónico a través de la restauración psicológica experimentada por el contacto con la naturaleza, mientras que los espacios urbanos tienen un efecto bajo o casi inexistente. Se sabe que la amígdala juega un rol central en la respuesta a estrés, lo que aún no se ha descrito claramente es como es que esta región cerebral interactúa con otras áreas del cerebro mientras se atraviesa por una situación o estímulo que desencadena una respuesta de este tipo, y qué es lo que sucede en el cerebro una vez que el estímulo ha desaparecido. Por ello, en este proyecto se realizó un diseño experimental de medidas repetidas simple con dos grupos, con una muestra de 40 varones sanos (edad promedio 33.6 años, D.E.: 10.41), en el que con el uso de la tecnología de resonancia magnética se caracterizó la conectividad funcional de la amígdala cerebral en estado de reposo después de un estímulo estresante y después de un estímulo de alto o bajo potencial restaurador. Como resultados se obtuvo que el video aumento el estrés psicológico ocasionando cambios en la conectividad funcional de la amígdala con áreas de la corteza prefrontal, corteza del cíngulo y áreas de las cortezas occipital y parietal sugiriendo un involucramiento de estas áreas en procesos que permitan una restauración del estrés. Los ambientes con naturaleza potencian el proceso restaurativo, mientras que los ambientes con alta urbanidad y poco contenido natural no facilitan dicho proceso.

Palabras clave: Estrés, amígdala, conectividad funcional, restauración psicológica.

ABSTRACT

We live in a time where the stress generated by the routine day to day of the current lifestyles remains constant, becoming a chronic condition that affects the welfare of society. This trend tends to be reflected mainly in those chaotic and stressful urban areas where people have little or no access to nature. In contrast, several theories suggest that urban spaces with green areas tend to decrease chronic stress through psychological restoration experienced by contact with nature, while urban areas have low or almost no effect. It is known that the amygdala plays a central role in the response to stress, which has not yet been described clearly is how it is that this brain region interacts with other brain areas while going through a situation or stimulus that triggers a response of this type, and what happens in the brain once the stimulus has disappeared. Therefore, in this project we perform an experimental design of simple repeated measures with two groups, with a sample of 40 healthy males (average age 33.6 years, S.D.: 10.41), in which with the use of MRI technology was characterized the cerebral functional connectivity of the amygdala at resting state after a stressor and after a restorative stimulus with high or low restorative potential. As a result was obtained that the video increased psychological stress causing changes in functional connectivity of the amygdala with areas of the prefrontal cortex, cingulate cortex and areas of the occipital and parietal cortices suggesting involvement of these areas in processes that allow a restoration from stress. The nature environments enhance the restorative process, while environments with high urbanity and unnatural content not facilitate that process.

Key Words: Stress, amygdala, functional connectivity, physiological restoration.

INTRODUCCIÓN

El estrés es una respuesta fisiológica adaptativa que nos permite sobrevivir a situaciones que amenazan nuestro bienestar, esta respuesta se lleva a cabo a través de una serie de reacciones fisiológicas que involucran al sistema nervioso y que preparan al organismo alterando su equilibrio (homeostasis) para reaccionar de acuerdo a la situación. Una vez que el estímulo que desencadena la respuesta de estrés desaparece, el individuo tiene la capacidad de retornar a su homeostasis (McEwen, *et al.*, 2010; Romero, *et al.*, 2009). Estos procesos involucran una compleja gama de interacciones que abarca distintas áreas del cerebro, que si bien existen numerosas investigaciones en torno a la misma, aún sigue sin comprenderse cómo es que el sistema nervioso interactúa para retornar a su estado homeostático y qué factores contribuyen o afectan este proceso.

El medio ambiente (familiar, social, económico, cultural, demográfico) tiene una gran influencia en el desarrollo del cerebro, ambientes aversivos pueden alterar el buen funcionamiento de sistemas neuronales aumentando el riesgo de desórdenes mentales (Tost, *et al.*, 2015).

En humanos una de las áreas con un nivel de influencia en la salud mental mejor establecidos es la vida en la ciudad (ambiente urbano), sin embargo, el aumento de riesgo de padecer un desorden de este tipo no obedece únicamente al hecho de vivir en una ciudad, sino más bien a las características aversivas (fragmentación familiar, disparidad socioeconómica, delincuencia, contaminación ambiental, etc.) que pudiera poseer y que afectan el desarrollo neuronal (Tost, *et al.*, 2015). Por otro lado los ambientes naturales son una fuente de relajación, regeneración y mejora del bienestar humano; y los efectos psicológicos que se experimentan en dicho ambiente parecen trasladarse a espacios urbanos con áreas verdes especialmente en aquéllos que poseen gran diversidad (Fuller, *et al.*, 2007).

Existen diversas teorías como la teoría de la biofilia (Rosley, *et al.*, 2014), la teoría de restauración de la atención (Kaplan, *et al.*, 1995) y la teoría psico-evolutiva de

recuperación del estrés (Ulrich, 1984) que proponen que el entorno visual que nos rodea tiene efectos en la regulación de la respuesta a estrés, por ejemplo Ulrich propone en su teoría que los ambientes con contenido natural contribuyen con el retorno a la homeostasis fisiológica y particularmente psicológica (Ulrich, 1984), mientras que por el contrario Lederbogen señala que ciertos escenarios urbanos contribuye a la permanencia del estrés crónico aumentando el riesgo de desórdenes en la salud mental (Lederbogen, *et al.*, 2013).

Una de las regiones involucradas en la respuesta a estrés es la amígdala, que genera un gran interés en la comunidad científica debido a las funciones e interacciones que realiza durante esta respuesta, pues está ligada a la regulación de las emociones negativas sobre todo el miedo (Fuch, *et al.*, 2003; Kim, *et al.*, 2011). Funciona como sistema de alerta y vigilancia, además de que contribuye en las funciones de memoria y aprendizaje a través de su interacción con el hipocampo y la corteza prefrontal, entre otras funciones.

Estudiar el papel que desempeña la amígdala en la respuesta a estrés en humanos es posible por medio de varias técnicas como electroencefalograma (EEG) (Zotev, *et al.*, 2016), tomografía por emisión de positrones (PET) (Sone, *et al.*, 2015), resonancia magnética funcional (RMf) (Roy, *et al.*, 2009), esta última es una técnica de imagenología que nos permite explorar la conectividad funcional de ciertas áreas del cerebro durante un evento o en estado de reposo, esto mediante el registro de la señal BOLD (Blood oxygen level dependent) que es una medida indirecta de la actividad neuronal (Van der Huevel, *et al.*, 2010).

En este proyecto se caracterizó la conectividad funcional de la amígdala en estado de reposo en humanos, después de la exposición a un evento estresante, así como después de la exposición a imágenes representativas del entorno natural o urbano (imágenes con potencial restaurativo). El paradigma que se implementó está conformado por tres distintas etapas: la primera en estado basal, después en un estado de estrés agudo inducido y por último después de que el participante observa imágenes

de escenarios naturales o urbanos, con la finalidad de investigar la capacidad que tiene el ambiente físico percibido para modular la respuesta a estrés y la conectividad funcional de la amígdala.

Conocer las regiones con las que la amígdala tiene una conectividad durante estos estados es de gran importancia para el entendimiento tanto de la respuesta a estrés como del proceso restaurativo ya que alteraciones en dichos procesos están involucradas en diversas enfermedades como ansiedad, el estrés postraumático, depresión, entre otras (Kim, *et al.*, 2011; Rabinak, *et al.*, 2011; Deppermann, *et al.*, 2014; Modi, *et al.*, 2015; Wilson, *et al.*, 2015).

ANTECEDENTES

Estrés

Históricamente se tienen conocimientos de la existencia del estrés y sus efectos desde la era de Aristóteles, Hipócrates y otros tantos historiadores griegos. No es hasta las investigaciones de H. Selye donde se comienza a utilizar la palabra estrés para referirse al Síndrome General de Adaptación quien lo definió como una reacción que representa un esfuerzo del organismo por adaptarse a la nueva condición a la que es sometido (Selye, 1936). Sin embargo, el estrés es definido dependiendo del contexto en que se usa, un claro ejemplo se encuentra en la siguiente definición de *McEwen* que dice que el estrés puede ser definido como una amenaza real o aparente a la integridad fisiológica o psicológica de un individuo que resulta en una respuesta fisiológica y/o de comportamiento (*McEwen*, 2000).

Los componentes que caracterizan a el estrés son tres: a) estímulo estresante, b) sistema de procesamiento y por último c) una respuesta al estímulo estresante; éstos, interactuando entre sí, pueden desencadenar cuatro tipos de efectos: fisiológicos, conductuales, de experiencia subjetiva y/o función cognitiva (Levine, 2005). Existen además distintos tipos de estresores, cómo los fisiológicos que son aquéllos que producen cambios físicos, de sistemas u osmóticos; y los estresores psicológicos también llamados neurogénicos o emocionales, que son iniciados por complejos mecanismos somato-sensoriales y nociceptivos procesados por otras áreas del cerebro que involucran componentes cognitivos emocionales y de aprendizaje (Kovacs, *et al.*, 2005).

Uno de los factores del que depende la respuesta a estrés es el tipo de estresor, estos se pueden diferenciar en estresores reactivos que son los que incrementan la demanda en el sistema a través de un estímulo sensorial real (dolor, heridas, temperatura), mientras que los estresores anticipatorios son aquéllos donde se utilizan programas innatos o de memoria como en retos sociales o situaciones desconocidas (Dedovic, *et al.*, 2009).

Otro tipo de clasificación es dividir a los estresores en: físicos y psicológicos, mismos que involucran distintas áreas del cerebro, en la Figura 1 puede observarse las áreas mayormente reportadas que responden para cada tipo de estresor. Las flechas en cada estructura de la Figura 1 indican el cambio en su activación (↑ aumento, ↓ disminución) que como consecuencia contribuyen en el incremento (↑↑ cortisol) de los niveles de cortisol (Dedovic, *et al.*, 2009).

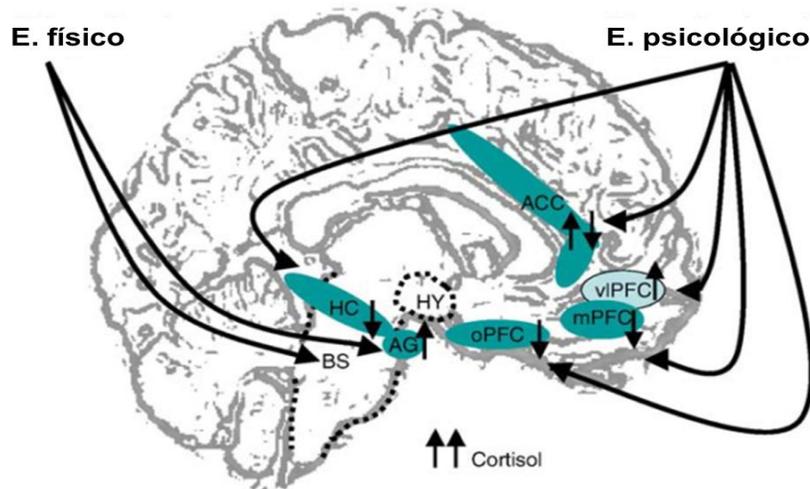


Figura 1. Áreas del cerebro asociadas al procesamiento de estresores físicos y psicológicos. BS^a: tallo cerebral; HY^a: hipotálamo; HC^a: hipocampo; AG^a: amígdala; PFC^a: corteza prefrontal; oPFC^a: corteza prefrontal orbital; mPFC^a: corteza prefrontal medial; vIPFC^a: corteza prefrontal ventro-lateral; ACC^a: cíngulo anterior. ^a Siglas en inglés. (Adaptado de Dedovic, *et al.*, 2009).

La mayoría de los eventos estresantes se pueden dividir o categorizar de acuerdo al tipo, la duración del evento o a la frecuencia de exposición al evento estresante (Steckler, *et al.*, 2005). En términos de exposición, el estrés se divide en agudo y crónico, el estrés agudo es la respuesta a una situación alarmante que prepara a nuestro organismo para responder adecuadamente y sobrevivir a dicha situación, además de generar una memoria que permita evitar y/o prevenir situaciones similares. El estrés crónico por otra parte se genera cuando existe una exposición continua al estímulo estresante, prolongando de tal manera el estado de estrés por un amplio periodo de tiempo, ocasionando el desequilibrio constante del organismo, lo que puede propiciar diversas enfermedades y desórdenes psicológicos (Rohleder *et al.*, 2011).

Perspectivas teóricas del estrés

El estrés ha sido estudiado desde dos perspectivas distintas: la fisiológica y la psicológica, que si bien son muy distintas guardan relación entre sí.

Perspectiva fisiológica

Desde el punto de vista fisiológico, la respuesta a estrés es un fenómeno complejo que implica cambios autónomos, físicos, y de comportamiento, además de cambios neuroendocrinos (Dedovic, *et al.*, 2009). En la mayoría de los vertebrados existen diversas vías que son activadas en respuesta a distintos tipos de eventos estresantes, en los seres humanos. Dos de las principales vías de respuesta son: la del sistema simpático que actúa directamente sobre la médula adrenal liberando catecolaminas (como la adrenalina) que prepara al cuerpo para hacer frente a una amenaza y procurar la adaptación para sobrevivir y la vía del eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal (HHA), que es activada principalmente cuando el estímulo es psicológico (Steckler, 2005). Esencialmente, lo que sucede en este eje es que el hipotálamo libera la hormona liberadora de corticotropina en la hipófisis misma que a su vez se encarga de liberar la hormona adrenocorticotropa en la circulación para llegar a la corteza adrenal que liberara glucocorticoides como el cortisol en humanos, que se encarga de la regulación de la respuesta a estrés mediante retroalimentación negativa (Kiems, *et al.*, 2013).

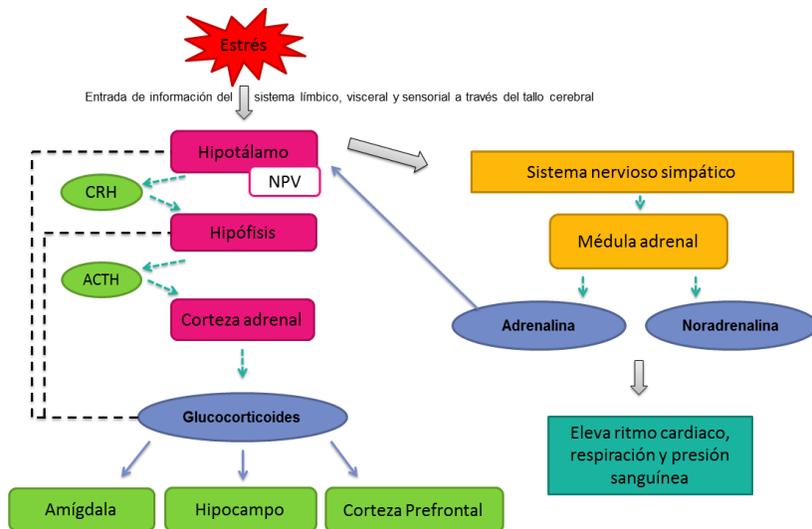


Figura 2. Respuesta fisiológica al estrés. NPV: núcleo paraventricular; CRH^b: hormona liberadora de corticotropina; ACTH^b: hormona adrenocorticotropa. ^b Siglas en inglés (Adaptado de Deppermann, *et al.*, 2014).

Perspectiva psicológica

Se basa en la interpretación individual del sentido que tiene el entorno y en una evaluación de los recursos para enfrentar o manejar la amenaza presente. Consiste de dos evaluaciones, una primaria donde se evalúa al estresor para obtener su descripción y valorar el peligro que representa y una segunda evaluación donde se procesa cómo manejar la situación estresante (Lazarus, *et al.*, 1966). Son tres las implicaciones que se tienen que considerar cuando se habla de estrés psicológico, las cuales son:

- La percepción individual de las demandas del entorno y la capacidad para manejar el estrés.
- Las situaciones estresantes no son uniformemente aversivas, elementos sociales y personales pueden aminorar o potenciar el efecto del estresor.
- Los estresores además de propiciar el estrés psicológico también tienen un impacto fisiológico en el individuo (Evans & Cohen, 1977).

Estresores

Evans y Cohen propusieron cuatro categorías para clasificar los tipos de estresores del entorno los cuales son: 1) Eventos catastróficos que demandan una respuesta adaptativa inmediata de todos los individuos afectados por el evento, como por ejemplo un terremoto; 2) Eventos estresantes de la vida son considerados como tales aquellos incidentes que requieren de una respuesta social, personal o adaptativa como por ejemplo el status familiar, económico, educativo; 3) Molestias cotidianas se refiere a los eventos diarios que causan frustración, tensión, o irritación, son los más comunes y los de menor duración, ya sean eventos del ambiente, problemas en el trabajo (discusiones) o problemas personales; y por último; 4) Estresores ambientales, que se refieren al entorno físico que rodea a un individuo, el término se desarrolló para distinguir entre las condiciones más continuas, relativamente estables e intratables del ambiente físico. La mayoría de estos estresores no son percibidos hasta que interfieren con algún propósito o amenazan directamente la salud (Evans & Cohen, 1977).

De acuerdo con Evans & Cohen (Evans & Cohen, 1977) varios tipos de estresores ambientales se pueden categorizar en ocho dimensiones dependiendo de:

1. Si el estresor es perceptivamente relevante, es decir, fácil de identificar.
2. El tipo de ajuste requerido para enfrentar la condición ambiental.
3. El valor del evento ya sea que esté beneficiando o perjudicando al individuo según la situación.
4. El grado de control psicológico que tenga el individuo.
5. Si el estresor es previsible de tal manera que se altera la dificultad de habituarse.
6. Si es necesario o importante para una determinada acción.
7. Si la fuente de estresor está ligada a la conducta humana.
8. La durabilidad o periodicidad con que se presente el estresor ambiental.

Efectos por exposición a estrés

Los efectos generados por el estrés en el humano (Tabla 1), se deben principalmente al cortisol, estos pueden ser fisiológicos y psicológicos ya que esta hormona tiene como blanco tanto sistemas periféricos como procesos centrales (Lupien, *et al.*, 2007).

El cortisol genera una amplia variedad de efectos que cambian y/o alteran respuestas metabólicas, cardiovasculares e inmunes con el objetivo de preparar al sistema para hacer frente a un evento estresante (Dedovic, *et al.* 2009).

Tabla 1. Efectos de la respuesta a estrés

Efectos de la respuesta a estrés	
Efectos fisiológicos¹	Efectos psicológicos²
Aumento de catecolaminas.	Mayor auto reporte de afecto negativo.
Niveles elevados de corticosteroides.	Reducción de conducta altruista u otras formas de cooperación social.
Aumento de presión sanguínea.	Aumento de conductas agresivas y hostiles.
Aumento de conductancia de la piel.	Alteración en la toma de decisiones.
Aumento de respiración.	
Aumento de tensión muscular.	

^{1,2} Evans & Cohen, 1977; ¹ Wood, *et al.*, 2014; ² Hall, *et al.*, 2015; ^{1,2} Raio, *et al.*, 2015.

Áreas del cerebro involucradas con la respuesta a estrés

Las áreas del cerebro involucradas en la respuesta a un estímulo estresante (Figura 3) son la corteza prefrontal, amígdala, el hipocampo, núcleo accumbens e hipotálamo (Mora, *et al.*, 2012). La sustancia gris periacueductal, el hipotálamo, la amígdala y la corteza del cíngulo están implicadas en una evitación defensiva (paralizarse, huir, pelear) mientras que el hipocampo y la corteza del cíngulo posterior se relacionan con planeamiento defensivo, valoración del riesgo e inhibición de comportamiento (Steckler, 2005). La mayor contribución de la amígdala en la respuesta a estrés es mediar la influencia neuroendocrina de la excitación emocional y el estrés en el aprendizaje y la memoria (Akirav, 2005).

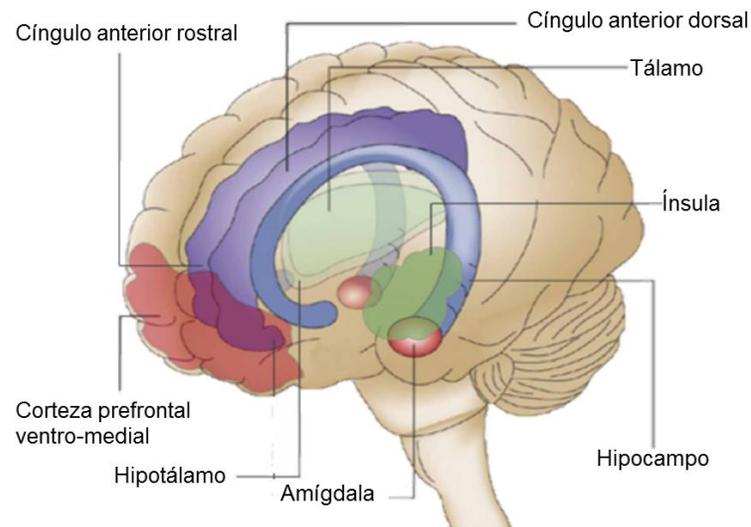


Figura 3. Áreas cerebrales relacionadas al estrés (Adaptado de Werff, *et al.*, 2013).

Amígdala

La amígdala es una de las primeras áreas en responder al estrés activando cualquiera de las dos vías de respuesta (Quaedflieg, *et al.*, 2015; Buijs, *et al.*, 2015). La amígdala es una estructura con forma de almendra situada en el lóbulo temporal medial (Kim, *et al.*, 2011) conformada por una serie de subnúcleos agrupados en tres núcleos principales: el núcleo basolateral, núcleo cortical y núcleo centromedial (Sah, *et al.*, 2003). Participa en el procesamiento de emociones, especialmente las negativas como el miedo, desencadenando una conducta como respuesta al estímulo presentado (Gold,

et al., 2015), lo que la convierte en una estructura clave en la detección y vigilancia de amenazas (Marle, *et al.*, 2010). Tiene vías aferentes del núcleo del tracto solitario, el tálamo y las cortezas parietal, temporal, insular y prefrontal; mientras que sus principales vías eferentes son hacia el hipotálamo y el hipocampo (Sah, *et al.*, 2003). En pocas palabras, la amígdala es esencial en la regulación de la respuesta a estrés, así como del aprendizaje generado por la misma respuesta (Fink, 2010).

Banks y cols. demuestran que hay conexiones anatómicas entre la amígdala y la corteza del cíngulo anterior (CCA), corteza orbitofrontal (CoF), corteza prefrontal ventromedial (CPFvm) y corteza prefrontal dorsomedial (CPFdm), conexiones involucradas con la regulación de la respuesta emocional (Banks, *et al.*, 2007). Así también, la amígdala tiene un rol crítico en la integración de influencias neuromodulatorias que participan en la generación de memorias después de un evento con carga emocional (Herman, *et al.*, 2014).

Kim y cols. señalan que la fuerza de la conectividad funcional de la amígdala con la corteza prefrontal medial (CPFm) durante el estado de reposo pudiese representar una comunicación eficiente entre ambas regiones, misma que podría ser responsable de evitar la generación de estados de ansiedad (Kim, *et al.*, 2011).

Proceso de restauración

Cannon definió la homeostasis como el estado de equilibrio que un organismo necesita para su adecuado funcionamiento (Cannon, W.B. 1932). Cuando esta homeostasis se ve afectada como por ejemplo, por la presencia de un estresor, nuestro organismo tiene la capacidad de retornar a esta homeostasis después de que ha pasado el evento estresante. Este proceso se conoce como proceso restaurativo, que incluye restauración fisiológica, emotiva y de cognición (Martínez, *et al.*, 2013). Sin embargo, este proceso puede verse afectado por diversos factores que influyen a que el estrés se vuelva crónico, impidiendo la restauración. Uno de los factores que tienen influencia en estos procesos es el medio ambiente que nos rodea.

Restauración psicológica

Existen varios conceptos sobre restauración psicológica, mismos que han ido desarrollándose con el tiempo, sin embargo todos coinciden en el uso de palabras como recuperación, renovación y reducción como efectos de la restauración psicológica (Martínez-Soto, 2016). Linder y colaboradores la definen como procesos a través de los cuales las personas recuperan sus recursos adaptativos que han sido agotados ante los esfuerzos de satisfacer las demandas cotidianas (von Linder, *et al.*, 2013).

Para que la restauración psicológica ocurra, se requieren: primero, algo que permita la restauración, es decir, que el individuo se encuentre libre de estresores y/o demandas ambientales; y segundo; algo que promueva la restauración como aspectos agradables de los ambientes u otras distracciones positivas (Martínez-Soto, 2016).

Las experiencias de restauración son complejas; además de la posible influencia restauradora del ambiente, existen otros mecanismos restauradores como dormir, practicar ejercicio físico, escuchar música, observar arte, que pueden verse apoyados por el potencial restaurativo del ambiente para facilitar la ocurrencia de los mecanismos de restauración (Martínez-Soto, 2016).

Dimensiones de la restauración psicológica ambiental: fisiológica, emotiva y cognitiva

Restauración fisiológica

Hace referencia al impacto de los ambientes restauradores en la fisiología humana. Por ejemplo ambientes con escenarios naturales disminuyen la frecuencia cardiaca (Ulrich, 1991), mientras que observar sitios urbanos evoca mayor estrés, eleva la presión sanguínea y actividad electro-dérmica (Parsons, *et al.*, 1998).

Restauración emotiva

A nivel emocional el contacto con ambientes restauradores disminuye la ansiedad y la agresión, también influye positivamente en el afecto positivo como los estados de felicidad y alegría (White, *et al.*, 2013^a; Martínez-Soto, 2016).

Restauración Cognitiva

Sucede que como consecuencia del contacto con la naturaleza, las personas presentan una mejora en el funcionamiento cognitivo (Martínez-Soto, 2016), como mejora en la concentración (Van der Berg, *et al.*, 2003; Ottoson, *et al.*, 2005) y reducción de la fatiga (Cimprich, 1992; Kuo, 2001).

En un proceso de restauración psicológico también están implicadas otros tipos de variables que influyen en dicho proceso, como el tipo de restauración requerida, el tiempo de exposición al ambiente restaurador, las influencias individuales (edad, género, estado de salud) y el tipo de actividades restauradoras que se realicen.

Ambientes restauradores

Tanto Ulrich como Kaplan en sus teorías de la restauración de estrés y restauración de la atención respectivamente, proponen que cierto tipo de ambientes pueden tener cierto efecto que potencie el proceso de restauración de un individuo. (Ulrich, 1983; Kaplan, 1955). Según Ulrich, para que un ambiente se considere con un alto potencial restaurativo después de una respuesta a estrés, éste debe evocar interés, placer y calma, y los escenarios deben tener una profundidad moderada, complejidad, punto focal y contenidos apropiados como vegetación y agua. Por otra parte, Kaplan estipula que el principal beneficio del contacto con la naturaleza es la restauración de la atención y que para que un ambiente se considere catalizador de la restauración psicológica deben percibirse las siguientes cualidades restaurativas:

- a) Estar alejado: Vinculado a un cambio en la experiencia de la vida cotidiana.
- b) Extensión: Se refiere a las propiedades de conexión y alcance en los entornos.

- c) Fascinación: Capacidad de los ambientes para sostener involuntariamente la atención sin demandar esfuerzo alguno.
- d) Compatibilidad: Implica el grado de ajuste entre las características de los escenarios y los propósitos e inclinaciones de las personas.

Al respecto, Martínez y Montero hicieron un estudio para evaluar la percepción de cualidades de restauración en ambientes considerados por los participantes como relajantes. Se le pidió a cada participante imaginar un ambiente relajante y después se le pidió contestar la escala de Percepción de Restauración Ambiental-Revisada (EPRA-R) (Martínez & Montero, 2008) para evaluar la presencia de las cualidades restaurativas antes mencionadas; los resultados sugieren que los ambientes elegidos por los participantes son escenarios que cuentan con las características restauradoras propuestas por la teoría de Kaplan.

En el mismo trabajo, se llevó a cabo la clasificación de los escenarios en naturales y contruidos, considerando naturales todos aquellos escenarios en los que la descripción física tuviera predominancia de contenidos naturales y no fuese común la presencia humana, se pudieran practicar actividades relacionadas con la naturaleza y tuvieran énfasis en la representación de contenido vegetal. Por otra parte, en los escenarios contruidos predominaban características físicas pertenecientes a un escenario contruido por el ser humano, y hacían alusión a actividades que no tienen que ver con actividades en la naturaleza (Martínez & Montero, 2010).

Otro estudio muestra el potencial restaurativo que tienen imágenes de tres distintos tipos de ambientes, en un primer análisis se utilizaron 117 imágenes de escenarios (47 de naturaleza, 33 urbanos y 37 con contenido de naturaleza y urbano) para evaluar sus cualidades afectivas (motivación, placer, relajante y no placentero). Como resultado se obtuvo que los ambientes con contenido de naturaleza tienen mayores cualidades afectivas que las de contenido urbano. A partir de estas imágenes se seleccionaron aquéllas con mayor calidad para evaluarlas con la escala EPRA-R para determinar su potencial restaurativo, resultando que los escenarios con naturaleza tienen un potencial restaurador mayor, los ambientes con naturaleza y construcción también tienen un

potencial restaurativo moderado, y los ambientes urbanos tienen un potencial restaurativo potencialmente bajo (Martínez, *et al.*, 2014).

Al comparar la capacidad de ambientes con naturaleza y ambientes urbanos, se ha comprobado en un estudio realizado en Dinamarca que los espacios naturales o áreas verdes están asociados con un aumento en la concentración y disminución de la fatiga mental y el estrés (Stigsdotter, *et al.*, 2010), mientras que las infraestructuras urbanas están relacionadas con el aumento de riesgo de padecer enfermedades psiquiátricas, trastornos del estado de ánimo y ansiedad, así como enfermedades coronarias (Lederbogen, *et al.*, 2011; Lederbogen, *et al.*, 2013;).

En un estudio reciente se mostró que las personas que viven a mayor distancia de áreas verdes tienen mayor déficit en su salud y mayores niveles de estrés que aquellas personas que viven a menor distancia de áreas verdes (Stigsdotter, *et al.*, 2010). Un estudio análogo realizado en Inglaterra arroja resultados similares, relacionando áreas verdes urbanas con un aumento en el bienestar y una disminución de la angustia en las personas (White, *et al.*, 2013).

Un trabajo que sustenta la creación de áreas verdes en espacios urbanos es el de Pearce y cols. que realizan un estudio para probar los beneficios de las arboledas en ambientes urbanos, esto a través de una serie de cuestionarios aplicados a una población australiana. Los resultados muestran la utilidad y los beneficios que puede obtener una sociedad con áreas verdes (Pearce, *et al.*, 2015).

Correlatos neuronales de la restauración psicológica ambiental

En cuanto a los trabajos realizados para estudiar el efecto restaurador de imágenes con escenarios es importante mencionar el realizado por Kim, *et al.* que compararon la conectividad funcional cerebral en personas con experiencias tanto de tipo rural y urbana, después de que estas observaran imágenes con escenarios distintos. Como resultado obtuvieron que en las imágenes con contenido rural había una mayor conectividad en las áreas asociadas a emociones positivas como el giro del cíngulo

anterior, globo pálido, putamen y cabeza del núcleo caudado; mientras que en imágenes con contenido urbano se vio una mayor conectividad en el hipocampo, parahipocampo y amígdala, áreas involucradas en memoria así como en predecir una posible amenaza (Kim, *et al.*, 2010).

Conectividad funcional

El cerebro es un conjunto de estructuras y regiones que interactúan entre sí para realizar sus funciones, las características de dicha interacción se pueden estudiar a partir de la conectividad tanto estructural como funcional que existe entre estas regiones. La conectividad funcional se define como la dependencia temporal entre eventos neurofisiológicos separados entre sí en el espacio (Friston, *et al.*, 1999). El estudio de la conectividad funcional puede realizarse con la técnica de resonancia magnética funcional en estado de reposo que consiste en no realizar ninguna tarea en específico y dejar fluir los pensamientos de manera natural (Huevel, *et al.*, 2010).

Resonancia magnética funcional

La técnica de resonancia magnética en estado de reposo (RMf-er) se ha convertido en una herramienta muy importante para el estudio de interacciones funcionales en el cerebro ante la ausencia de un estímulo o tarea particular, esto hace que la técnica sea especialmente idónea para analizar estados difusos del cerebro como lo es la respuesta al estrés (Veer, *et al.*, 2011). Existen distintos métodos para obtener los mapas de conectividad funcional del cerebro; el método semilla es el más adecuado para conocer la conectividad funcional de una región de particular interés, el cual consiste en correlacionar las series temporales en estado de reposo de la región de interés con las series temporales de todas las demás regiones (Huevel, *et al.*, 2010).

Conectividad funcional cerebral en estrés (crónico y agudo) en estado de reposo

Uno de los trabajos realizados para estudiar la conectividad funcional cerebral en estado de reposo durante una respuesta a estrés es el que realiza Henckens y cols. (Henckens, *et al.*, 2010), que después de aplicar un estímulo estresante continuo durante 10 días en roedores, identificaron 10 redes de conectividad funcional donde

hubo una mayor conectividad en las redes somato-sensorial, visual y la red por defecto por lo que sugieren que la exposición a un estrés crónico en roedores induce alteraciones en la conectividad funcional de las redes que se asemeja fuertemente a las alteraciones observadas en psicopatologías asociadas a estrés (Henckens, *et al.*, 2010). De forma similar y en consonancia con la investigación relacionada al estrés y la conectividad funcional de la amígdala en estado de reposo, se ha demostrado en ratas que un agente estresor (olor de depredador) tiene efecto en la amígdala y la corteza prefrontal medial aumentando su conectividad pasados 7 días después del estímulo estresante por lo que Liang y cols. sugieren que gracias a que se puede detectar esta conectividad con una técnica no invasiva, estos animales pueden ser utilizados como modelos para desórdenes como el estrés postraumático. (Liang *et al.*, 2014).

Estudios relacionados con la conectividad funcional cerebral en respuesta a un estímulo estresante han encontrado un decremento en la conectividad del hipocampo en participantes fatigados comparados con un grupo control analizando sus niveles de cortisol en muestras de saliva (Klassens, *et al.*, 2013); mientras que por otro lado un estudio realizado tanto en hombres como en mujeres muestra una hiperactividad durante el estado de estrés de las redes neuronales: por defecto, dorsal de la atención, ventral de la atención y visual, comparados con un grupo control, lo que apunta a que el estrés tiene un impacto en los patrones de activación y desactivación de dichas redes y que esto puede ser la razón de porqué el estrés induce cambios en varias dimensiones de la actividad cerebral (Soares, *et al.*, 2013); otro trabajo realizado en participantes masculinos aplicó una tarea de desafío matemático además de una amenaza social, para comparar los resultados de aquéllos que generaban una respuesta estresante y los que no. Resultando una mayor conectividad en la corteza prefrontal dorso medial, lóbulo temporal izquierdo, y la corteza prefrontal dorso lateral. También se observó un decremento de la conectividad en la áreas límbicas (hipocampo y corteza medial orbito frontal) relacionadas con memoria y regulación emocional (Dedovic, *et al.*, 2009).

Conectividad funcional de la amígdala en estado de reposo ante condiciones de estrés agudo

Para analizar la conectividad funcional de la amígdala en estado de reposo en humanos, Veer, *et al.* realizaron un estudio de resonancia magnética funcional utilizando la amígdala como semilla para obtener los mapas de conectividad funcional. Al comparar un grupo control con un grupo estresado, observaron mayor conectividad de la amígdala con la corteza prefrontal ventro medial, área que sugieren tiene control inhibitorio sobre la amígdala, misma que conecta con regiones de la red por defecto para conocer las demandas de una situación estresante. Los autores concluyen que estas áreas se activan e interactúan para propiciar el proceso de homeostasis (Veer, *et al.*, 2012).

Marle *et al.* en sus trabajos evaluaron la conectividad funcional en estado de reposo de la amígdala después de un evento estresante utilizando a la misma como semilla para obtener los mapas de conectividad funcional. Obtuvieron como resultado que la conectividad funcional de la amígdala con la corteza del cíngulo anterior y la ínsula anterior aumenta después de un estímulo de estrés agudo por lo que sugiere una prolongación del estado de vigilia, es decir, que se genera un estado de hipervigilancia (Marle, *et al.*, 2010).

Recientemente en un estudio mixto de hombres y mujeres se utilizó la técnica de resonancia magnética funcional en estado de reposo para evaluar la conectividad funcional de la amígdala y la moderación de la regulación de los glucocorticoides inmediatamente después de un evento estresante y durante un proceso de restauración; midieron el cortisol en saliva así como registro de pulso cardiaco y respiración. Observaron que el pico más alto de cortisol fue después del evento estresante, en cuanto a las medidas fisiológicas no hubo diferencia significativa al comparar los estados, lo cual podría indicar que los cambios de conectividad funcional no se deben a diferencias en las respuestas fisiológicas que involucran la señal BOLD, tales como la frecuencia cardiaca y la frecuencia respiratoria. La conectividad funcional de la amígdala inmediatamente después del evento a estrés disminuyó con la corteza

prefrontal ventro-lateral izquierda, corteza del cíngulo posterior izquierda y derecha, culmen y cuneos y aumentó con el giro para-hipocampal. La disminución de la conectividad con la corteza prefrontal ventro-lateral izquierda sugiere menor efectividad en el manejo del estrés y posiblemente incrementa la vulnerabilidad al estrés por parte del individuo. La conectividad de la amígdala durante el proceso de recuperación del estrés disminuyó con la corteza ventral del cíngulo anterior y con la corteza prefrontal dorso lateral derecha y aumentó con la corteza dorsal del cíngulo anterior, el complejo hipocampal derecho y el cuneos bilateral (Quaedflieg, *et al.*, 2015).

JUSTIFICACIÓN

El panorama mundial en cuestión de salud es alarmante pues cada vez son más las personas que padecen de enfermedades de distinta índole como afecciones cardíacas, diabetes, enfermedades inmunológicas, así como desórdenes psicológicos como depresión, estrés postraumático y ansiedad. Todas estas patologías ven aumentada su probabilidad de insidencia cuando el estrés se vuelve crónico. Lo cual es preocupante debido a los estilos de vida que llevamos hoy en día, el estado de estrés crónico se ha vuelto una constante en la sociedad.

Son pocos los estudios que se han realizado sobre la influencia que puede tener el entorno en los procesos de respuesta a estrés y restauración y su relación con la conectividad funcional de la amígdala. Un entendimiento a nivel funcional de estos procesos y la manera en que el medio ambiente influye en ellos puede generar nuevas ideas para prevenir o mejorar el tratamiento de las enfermedades anteriormente mencionadas.

OBJETIVOS

General

- Comparar la conectividad funcional cerebral en estado de reposo de la amígdala en las condiciones: antes y después de un evento estresante y después de los estímulos con alto y bajo potencial restaurador.

Específicos

- Evaluar los cambios en la conectividad funcional entre el estado basal y posterior al estímulo estresante.
- Comparar la influencia de las imágenes con alto y bajo potencial restaurador en la promoción de procesos asociados con la restauración psicológica ambiental.
- Analizar la variabilidad del registro de medidas fisiológicas (frecuencia cardiaca y respiración) del estado de estrés.

HIPÓTESIS

- A) El estrés afecta la conectividad funcional cerebral de la amígdala con la red neuronal por defecto en estado de reposo, misma que incrementa para propiciar el proceso de restauración.
- B) Después del estímulo estresante, la conectividad funcional cerebral de la amígdala disminuye con las áreas de la corteza prefrontal y aumenta con la corteza del cíngulo anterior.
- C) Después del proceso de restauración la conectividad funcional de la amígdala aumenta con áreas de la corteza prefrontal.
- D) Imágenes con contenido de naturaleza (alto potencial restaurador (APR)) contribuyen a potenciar el proceso de restauración de un individuo después de una respuesta a estrés.
- E) Las imágenes con contenido urbano o construido sin naturaleza (bajo potencial restaurador (BPR)) no tienen un efecto potenciador significativo durante el proceso de restauración.

METODOLOGÍA

Participantes

Los estudios de resonancia magnética se llevaron a cabo en la Unidad de Resonancia Magnética de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Se estudió una muestra de 40 participantes voluntarios, todos hombres sanos, el promedio de edad de los participantes fue de 33.6 años con una desviación estándar de 10.41 años; escolaridad mínima de preparatoria, diestros y con nivel socioeconómico de medio a alto. Todos los participantes firmaron una carta de consentimiento informado y no tenían contraindicación para realizar un estudio de resonancia magnética. Este proyecto fue aprobado por el comité de bioética del Instituto de Neurobiología con el número 014.HRM.

Instrumentos y materiales

- **Evaluación psicológica del nivel de estrés**

Se utilizó la Lista de Verificación de Adjetivos de Estrés y Activación (LVA-EA) (King, *et al.*, 1983; Martínez-Soto, *et al.*, 2013) que consta de 20 adjetivos de los cuales 9 son específicos para estrés (calmado, satisfecho, a gusto, inquieto, preocupado, afligido, tenso, tranquilo, molesto), el participante reportó su estado eligiendo una de cuatro opciones (Sí, tal vez sí, no estoy seguro, no en absoluto) para cada reactivo con valores de 1 a 4, esta lista funciona para obtener un auto-reporte de los niveles de estrés del participante.

- **Evaluación fisiológica durante el paradigma experimental**

Para evaluar fisiológicamente el nivel de estrés de los participantes se registró la frecuencia cardiaca con un oxímetro de pulso, además se utilizó un sensor de respiración para medir la frecuencia respiratoria durante cada una de las etapas del estudio.

- **Entrevista**

El experimento consta de dos sesiones: la primera es una entrevista con el participante donde se aplicaron los siguientes cuestionarios (SCL-90, Escala de

Edimburgo, Cuestionario de Seguridad Clínica, y cuestionario de datos generales) se explicó el uso del equipo complementario del resonador y las instrucciones para el desarrollo de las pruebas dentro del resonador.

Procedimiento

- **Diseño Experimental**

Diseño experimental de medidas repetidas simple de un solo grupo con tres tratamientos, donde la variable independiente es el estrés y las variables dependientes son la conectividad funcional de la amígdala y las medidas fisiológicas.

- **Sesión dentro del resonador magnético.**

Dentro del resonador magnético se realizó un proceso de localización y calibración después del cual se aplicó un paradigma experimental que consta de cinco fases (Figura 6) y tiene una duración aproximada de 60 min, dicho paradigma está diseñado de la siguiente manera:

1. Etapa basal

Terminados los procesos de localización y calibración se continuó con la aplicación de la escala LVA-EA en la que cada participante reportó su estado de ánimo en ese momento. Al terminar, se realizó la adquisición de imágenes de resonancia magnética funcional en estado de reposo (RMf-er) con una duración de 6 min en la que se pidió al participante cerrar los ojos y dejar fluir sus pensamientos libremente. Durante la adquisición de imágenes también se registraron la frecuencia cardíaca y respiratoria.

2. Presentación del estímulo estresante

Para generar un estado de estrés psicológico afectivo en los participantes se utilizó un vídeo con duración de 4 min 57 s con contenido de violencia animal seleccionado del documental “Faces of Death #1” (Brand, *et al.*, 1997) que está comprobado que induce un déficit emotivo y cognitivo en poblaciones normales

(Martínez-Soto, *et al.*, 2013). Durante la visualización del mismo se hizo registro de la frecuencia cardiaca y respiratoria.

3. Etapa de estrés

Después de la observación del video dio comienzo la etapa denominada “de estrés” porque es inmediatamente posterior al estímulo estresante, en la que se repitió la aplicación de la LVA-EA, seguido de la RMf-er con igual duración de tiempo, así como con la misma instrucción a seguir. También se obtuvieron los registros de las variables fisiológicas.



Figura 4. Escenas del video “Faces of Death # 1” (Brand, *et al.*, 1997).

4. Estimulo restaurativo

Para la aplicación del estímulo se dividió la muestra aleatoriamente en dos grupos: un grupo (n=20) que observó imágenes con APR y otro grupo (n=20) que observó imágenes con BPR; mientras el participante observó las imágenes correspondientes hubo registro de datos fisiológicos. Las imágenes con APR poseen contenido natural (jardines, parques, paisajes naturales, etc.); mientras que las imágenes con BPR tienen contenido de zonas urbanas con la menor cantidad de vegetación posible. Cada bloque tiene una duración de 5 min 6 s. La reproducción de cada bloque comienza con una serie de 30 s con las imágenes restaurativas correspondientes de cada bloque (cada imagen se presentó

durante 6 s), después aparece una serie de imágenes cuadriculadas (contenido neutro) por un lapso de 21 s, al término del cual se vuelve a repetir la misma secuencia en el mismo orden hasta seis veces.



Figura 5. Imágenes restaurativas, A) Imagen con alto potencial restaurativo. B) Imagen con bajo potencial restaurativo (Martínez-Soto, *et al.*, 2013).

5. Etapa de restauración

Ausente el estímulo se asume que da inicio el proceso de restauración del participante, por lo tanto, en esta etapa se busca influir en el proceso con la presentación de estímulos potencialmente restaurativos; por ello, posterior a la presentación de los mismos, se aplicó nuevamente la escala de autoreporte de estrés LVA-EA, seguida de la RMf-er en igualdad de condiciones a las etapas basal y de estrés. Adicionalmente se registraron las medidas fisiológicas.

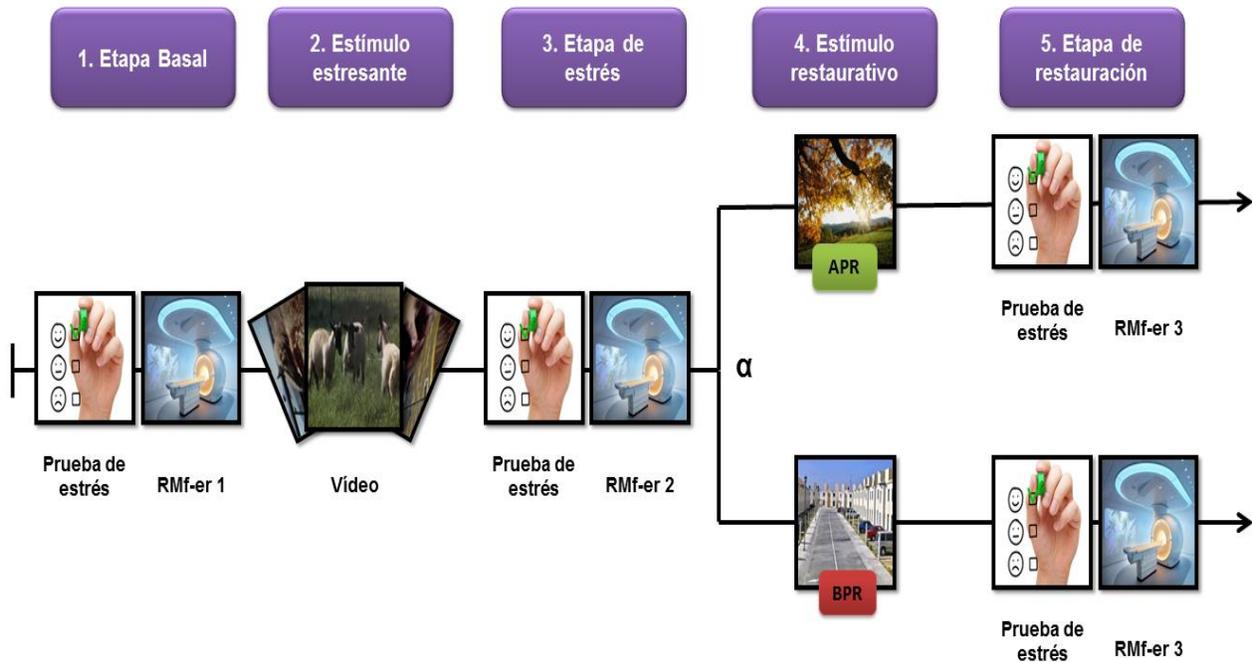


Figura 6. Paradigma experimental dentro del resonador magnético. ^α división aleatoria de la muestra. Elaboración propia.

- **Adquisición de imágenes de resonancia magnética funcional**

Todas las imágenes de resonancia magnética se adquirieron en un resonador General Electric de 3.0 Teslas Discovery MR750 usando la antena de 32 canales para cabeza. Las imágenes funcionales fueron adquiridas con una secuencia de pulsos Eco Planar (EPI), para imágenes pesadas a T2*, con un tiempo de repetición (TR) y tiempo eco (TE) de 2000 ms y 40 ms respectivamente, en una matriz de 64x64 con field of view (FOV) de 25.6 cm en 38 cortes axiales con un espesor por corte de 4 mm. Resultando en voxeles isométricos con una resolución espacial de 4x4x4 mm³. Las imágenes de alta resolución se adquirieron por medio de una secuencia spoiled gradient recall (SPGR) pesada a T1 de 1x1x1 mm³ de resolución espacial.

- **Pre-procesamiento de imágenes funcionales**

Se llevó a cabo un pre-procesamiento de las imágenes utilizando herramientas del software FSL (Jenkinson, *et al.*, 2012), además de secuencias de comandos desarrolladas en el laboratorio.

El pre-procesamiento se realizó tanto para las imágenes funcionales como estructurales de cada participante. A las imágenes funcionales se les hizo una corrección de adquisición intercalada, corrección del movimiento del cuerpo rígido y eliminación de las áreas no cerebrales. A las imágenes estructurales se les hizo corrección de variaciones de intensidad y segmentación del parénquima cerebral en sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo, así como eliminación de las áreas no cerebrales.

Luego se hizo un corregistro lineal de la imagen funcional a la imagen estructural, seguido de una normalización espacial al espacio estándar MNI152, además de regresión de variables confusorias de la sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo (aCompCor), filtrado temporal excluyendo frecuencias por debajo de 0.01 Hz y por arriba de 0.08 Hz. No se realizó suavizado espacial ni regresión global de la señal.

Análisis estadísticos

- **Estrés subjetivo**

Para la muestra (n=40 participantes) se realizó una prueba *t* pareada entre la etapa basal y de estrés. Posteriormente se dividió la muestra entre:

A) Estresados: aquéllos en los que la diferencia de los valores de la LVA-EA después del estímulo estresante y los valores de la etapa basal fue mayor a 0 (n=27 participantes).

B) No estresados: aquéllos donde la diferencia de los valores de la LVA-EA después del estímulo estresante y los valores de la etapa basal fue igual o menor que 0 (n=13 participantes).

En ambos grupos se utilizó la prueba t pareada para analizar el cambio en los niveles de estrés (Figura 8).

El análisis para los datos por grupo (APR y BPR) donde se incluye la etapa de restauración se realizó únicamente con la muestra estresada, utilizando un análisis de varianza (ANDEVA) para un factor con tres niveles de medidas repetidas, las pruebas post hoc fueron realizadas con el método Tukey para comparaciones múltiples; estos análisis se realizaron con el software estadístico R (R Core Team, 2015).

- **Datos fisiológicos**

Se utilizó el software R (R Core Team, 2015) para analizar los datos de frecuencia cardíaca y respiración ($n=11$ participantes). Los análisis se hicieron para ambas medidas fisiológicas. Se analizaron los datos obtenidos tanto del estímulo estresante como de las etapas basal y de estrés, utilizando una ANDEVA de un factor con 3 niveles de medidas repetidas, pruebas post hoc fueron realizadas con el método Tukey para comparaciones múltiples.

- **Análisis de la conectividad funcional de la amígdala**

Con las imágenes ya pre-procesadas se crearon los mapas de conectividad funcional, para ello se utilizó el programa DPABI (Data Processing & Analysis of Brain Imaging) (Yan, *et al.*, 2016) tomando como semilla ambas amígdalas, derecha e izquierda (Figura 7), seleccionadas del Harvard-Oxford Structural Subcortical Atlas (Desikan, *et al.*, 2006). Se realizó utilizando la herramienta fslview del software FSL (Jenkinson, *et al.*, 2012).

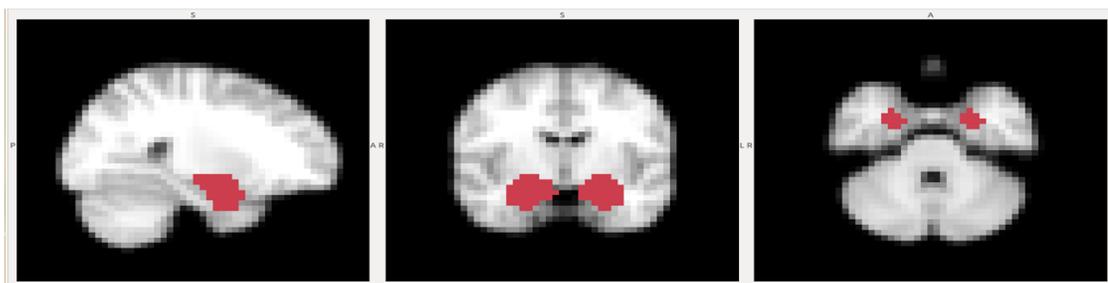


Figura 7. Semilla de la amígdala para mapas de conectividad. Elaboración propia.

Una vez obtenidos los mapas de conectividad se utilizó la herramienta “Randomise” (método de permutaciones de FSL (Jenkinson, *et al.*, 2012)) para realizar una prueba *t* pareada comparando los mapas de conectividad funcional de la amígdala de la etapa basal con los de la etapa de estrés de la muestra “Estresados” (n=27 participantes); delimitando a las áreas involucradas con la respuesta a estrés (Dedovic, *et al.*, 2009; Marle, *et al.*, 2010; Veer, *et al.*, 2011 y Werff, *et al.*, 2013) en una máscara (construida con fslview). Las áreas que comprenden la máscara se muestran en la Tabla 2. Esta máscara se utilizó en la realización de todos los análisis de conectividad funcional de la amígdala.

Tabla 2. Mascara de regiones de interés utilizadas en el análisis de conectividad funcional de la amígdala.

Estructura	Atlas
Corteza prefrontal	Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas ¹
Precuneus	Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas ¹
Corteza parietal superior	Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas ¹
Corteza occipital	MNI152 structural Atlas ²
Ínsula	Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas ¹
Corteza del Cíngulo anterior	Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas ¹
Corteza del cíngulo posterior	Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas ¹
Hipocampo izquierdo	Harvard-Oxford Subcortical Structural Atlas ³
Hipocampo derecho	Harvard-Oxford Subcortical Structural Atlas ³

^{1,3}Desikan, *et al.*, (2006). ²Collins, *et al.*, (1995); Mazziotta, *et al.*, (2001).

- **Análisis de la conectividad funcional de la amígdala antes y después del estímulo estresante**

Se realizó una prueba *t* independiente con la herramienta Randomise (Winkler, *et al.*, 2014) de FSL para comparar el estado basal de la muestra de estresados

con el estado basal de los no estresados; consecutivamente se hizo una prueba t independiente para comparar el estado de estrés entre estresados y no estresados.

- **Análisis de la conectividad funcional de la amígdala por grupo**

Para indagar los cambios en la conectividad funcional de la amígdala por grupo y con el fin de observar los efectos de los estímulos restaurativos se utilizó únicamente la muestra de estresados que se dividió entre los que observaron imágenes con APR (n=16 participantes) y los que vieron imágenes con BPR (n=11 participantes).

Primero, utilizando el análisis por permutaciones Randomise (Winkler, et al., 2014) de FSL, se realizó una prueba t pareada para la comparación de los mapas de conectividad funcional de la amígdala de la etapa basal con la etapa de estrés. Posteriormente se realizó el mismo tipo de análisis esta vez comparando la etapa de estrés con la etapa de restauración, cada uno de los análisis para ambos grupos.

RESULTADOS

Estrés subjetivo antes y después del video.

Hubo un incremento en el nivel de estrés en la muestra ($n=40$ participantes) después de observar el estímulo estresante ($t(39)= 4.7, p < 0.001$). Este comportamiento se observó de igual manera en la muestra estresados, de tal forma que se continua la tendencia de incremento significativo del nivel de estrés ($t(26)= 7.72, p < 0.001$), por el contrario del grupo no estresado que no mostraron cambios significativos en el nivel de estrés ($t(12)= 1.09, p > 0.05$) (Figura 8).

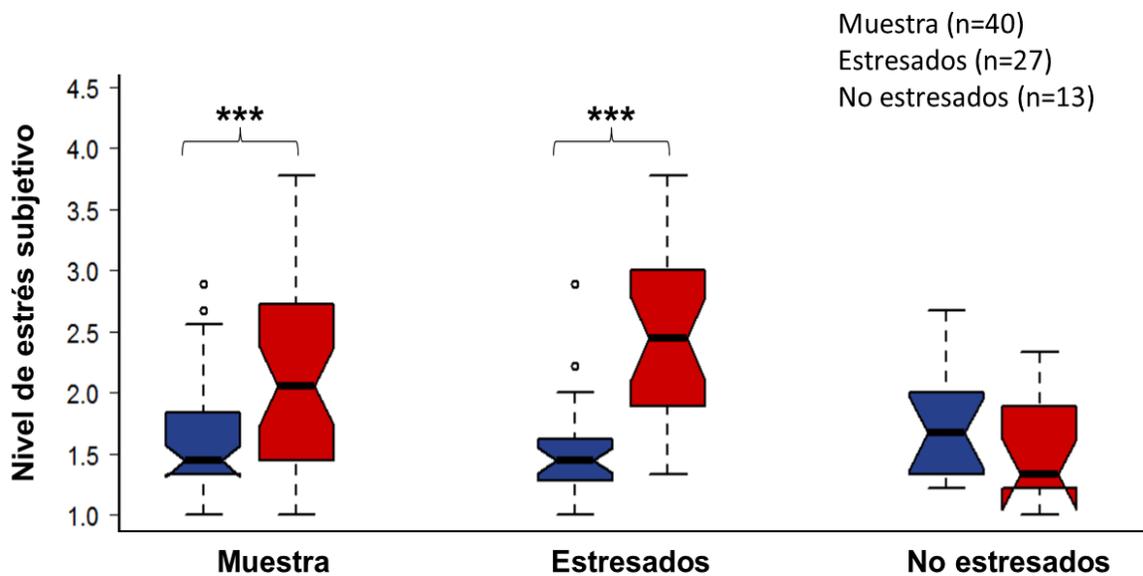


Figura 8. Niveles de estrés subjetivo. Etapa basal (azul), etapa de estrés (rojo).
*** $p < 0.001$. Resultados de todas las comparaciones en Apéndice A.

Estrés subjetivo por grupo restaurativo

Los cambios en el nivel de estrés subjetivo por cada grupo se observan en la Figura 9 donde la ANDEVA de medidas repetidas indico que había diferencias significativas entre las etapas tanto para el grupo de APR ($F(2/52)= 21.41, p < 0.001$) como para el grupo de BPR ($F(2/20)= 11.51, p < 0.001$); las pruebas post-hoc (Tukey) muestran que hay un aumento significativo del nivel subjetivo de estrés después de presentarse el

estímulo estresante tanto en el grupo de APR ($t(26) = 4.63, p < 0.001$), como en el grupo de BPR ($t(10) = 3.16, p < 0.05$).

Por último, en la etapa de restauración, después del estímulo restaurativo correspondiente, el grupo de APR reportó una disminución significativa en sus niveles de estrés ($t(26) = 2.24, p < 0.05$), contrario a lo obtenido en el grupo de BPR donde no hay una diferencia significativa en los niveles de estrés ($t(10) = 0.87, p > 0.05$).

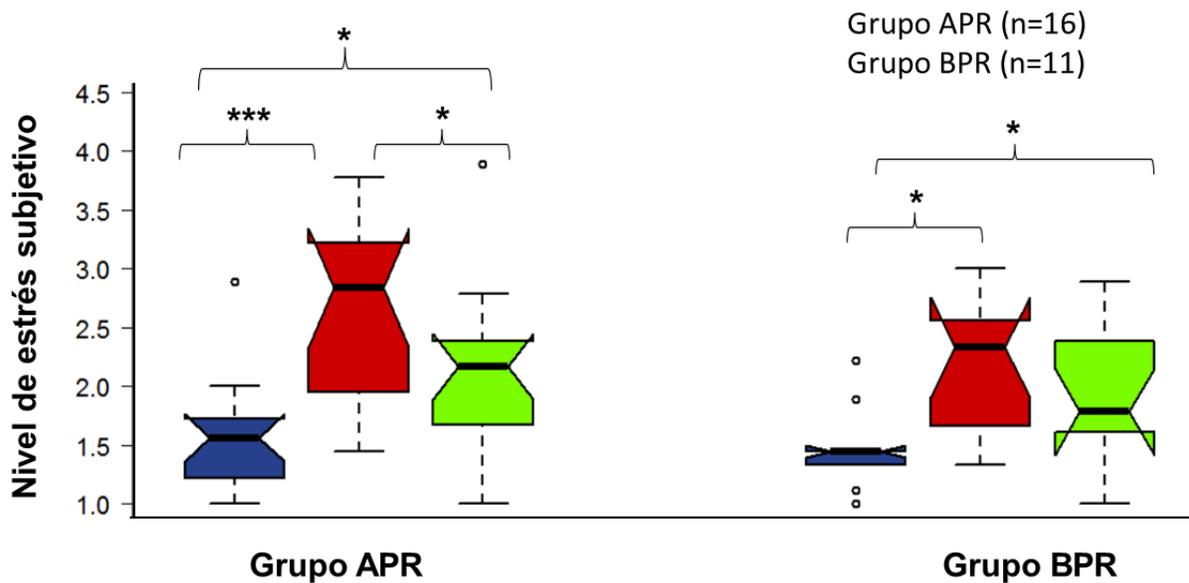


Figura 9. Niveles de estrés subjetivo por grupo. Etapa basal (azul), etapa de estrés (rojo), etapa de restauración (verde). * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

Es importante destacar que el nivel de estrés de ambos grupos en la etapa de estrés, aunque no fue significativamente diferente si existe una tendencia ($t(25) = 1.93, p = 0.07$). Los resultados mostraron que no hubo diferencia significativa en la etapa de restauración de los grupos ($t(25) = 0.49, p = 0.68$), sin embargo y a pesar de que en la comparación del cambio de nivel de estrés después de la presentación de los estímulos restaurativos no hubo diferencias significativas entre los grupos también hubo una tendencia ($t(25) = 1.48, p = 0.15$). Los resultados de todas las comparaciones que se realizaron se pueden observar en el Apéndice A.

Medidas Fisiológicas

Frecuencia cardiaca

Al comparar los resultados de frecuencia cardiaca de la muestra estresada (n=11 participantes) se obtuvo que existen diferencias significativas posiblemente propiciadas por el estímulo estresante que provoca alteraciones en la misma ($F(2/20)= 12.16$, $p < 0.001$). Los resultados de la prueba post hoc mostraron que hubo un incremento significativo durante la visualización del estímulo estresante de la frecuencia cardiaca ($t(10)= 3.52$, $p < 0.001$). También hubo un decremento significativo de la frecuencia cardiaca después de la visualización del estímulo durante la etapa de estrés ($t(10)= 3.61$, $p < 0.001$). No existen diferencias significativas entre la etapa basal y la etapa de estrés ($t(10)= 0.085$, $p > 0.05$) (Figura 10).

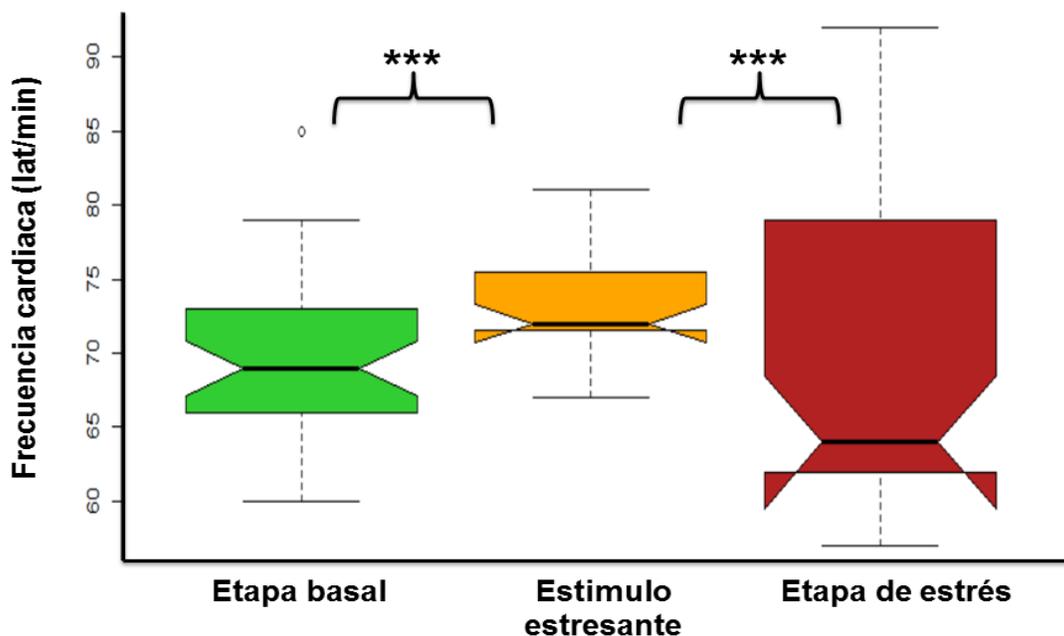


Figura 10. Cambios de la frecuencia cardiaca de la muestra estresada (n=11). Etapa basal (verde), estimulo estresante (amarillo) y etapa de estrés (rojo).

*** $p < 0.001$.

Respiración

En la muestra estresada la respiración no muestro cambios significativos debidos a la observación del estímulo estresante ($F(2/20)= 1.53, p > 0.05$), Tampoco hubo cambios significativos al compararse la etapa basal y el estímulo estresante ($t(10)= 0.86, p > 0.05$), ni al comparar la etapa basal con la de estrés ($t(10)= 1.19, p > 0.05$). Finalmente tampoco hubo cambios significativos entre el estímulo estresante la etapa de estrés ($t(10)= 0.332, p > 0.05$) (Figura 11).

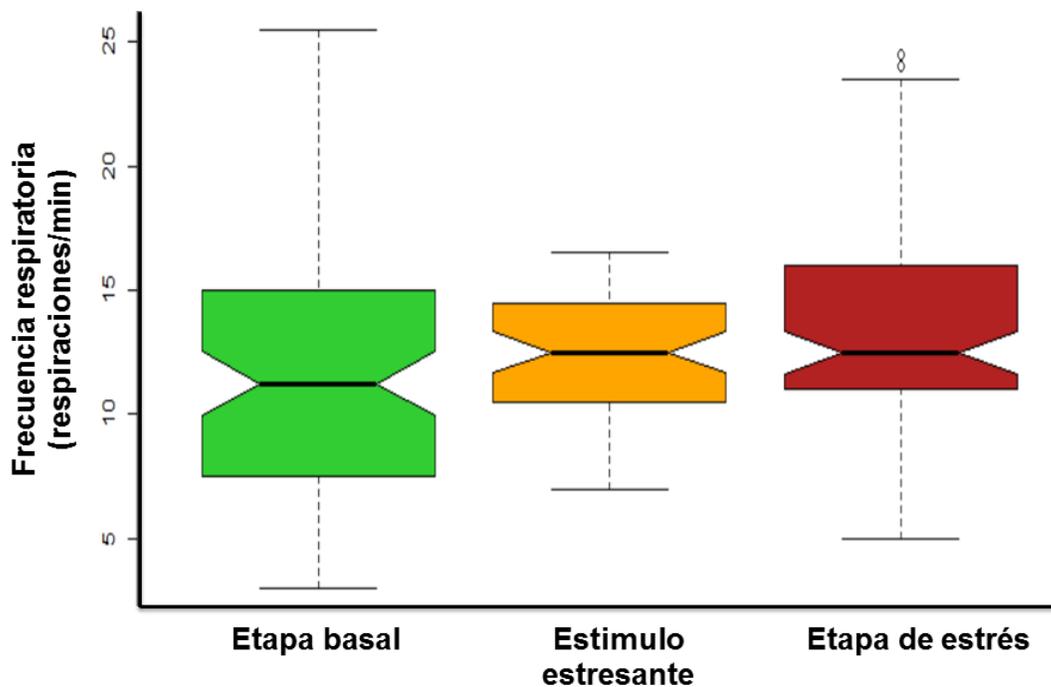


Figura 11. Cambios de la frecuencia respiratoria de la muestra estresada (n=11). Etapa basal (verde), estimulo estresante (amarillo) y etapa de estrés (rojo). *** $p < 0.001$.

Conectividad funcional de la amígdala

Comparación de etapas entre estresados y no estresados

Los mapas de conectividad de la amígdala durante las etapas basal y etapas de estrés de los grupos estresados y no estresados, mostraron que durante la etapa basal no hay cambios prominentes, sin embargo, se observaron cambios tenues donde la conectividad de la amígdala con los giros pre y postcentrales fue mayor en aquellos que se estresaron. Por otra parte, el grupo que no se estreso presentó mayor conectividad de la amígdala con áreas de la corteza prefrontal ventromedial, (Figura 12). Estos cambios aunque son significativos no sobrevivieron a la corrección por múltiples comparaciones. En el Apéndice B se pueden observar los datos referentes a la conectividad funcional de la amígdala para este análisis.

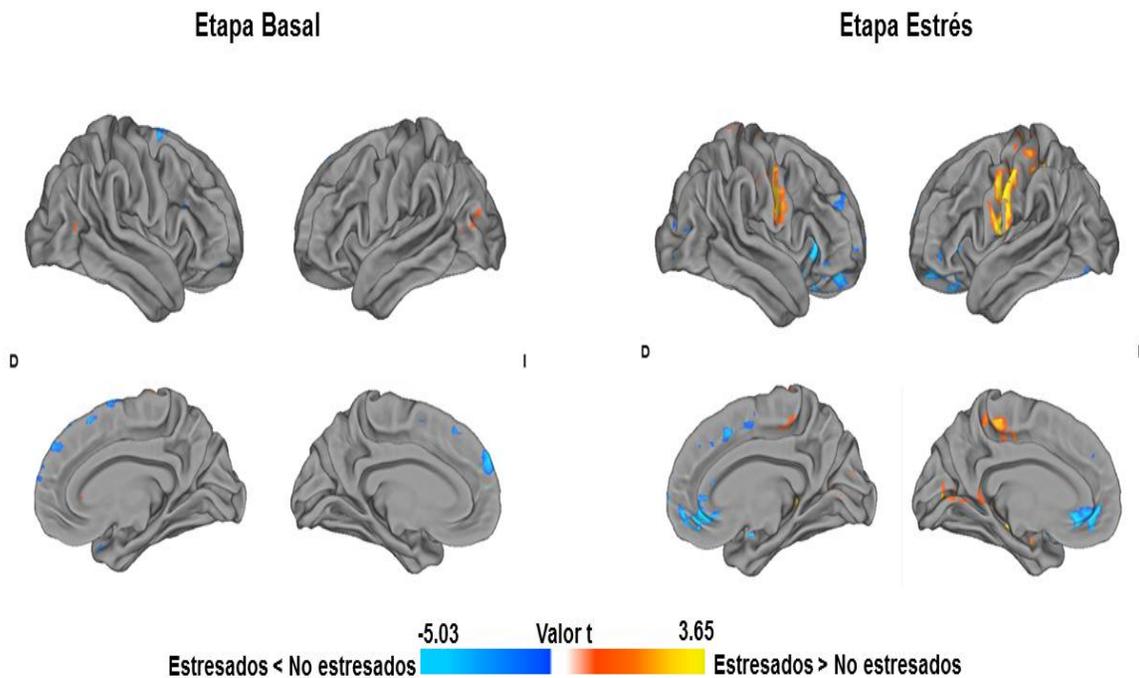


Figura 12. Comparación de la conectividad funcional de la amígdala de la muestra estresada y la no estresada antes y después de observar el estímulo estresante (p no corregida). Hemisferios: derecho (D) e izquierdo (I).

Comparación entre etapa basal y etapa de estrés del grupo estresado

Los resultados con la muestra estresados mostraron un aumento en la conectividad funcional de la amígdala (después de ver el estímulo estresante) con el giro frontal medio y áreas de la corteza parietal. Adicionalmente hubo una disminución de la misma con la corteza prefrontal ventromedial, corteza del cíngulo anterior y posterior, así como con el precuneus (Figura 13). Los valores estadísticos de dichas regiones se encuentran en el Apéndice B.

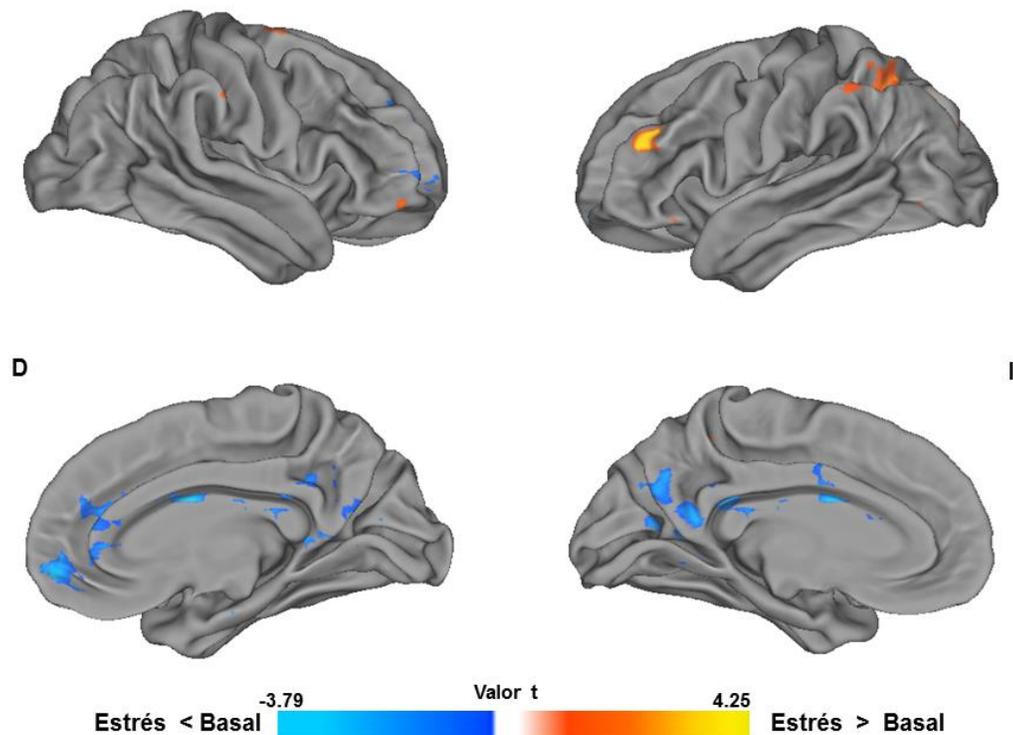


Figura 13. Cambios en la conectividad funcional de la amígdala con la muestra “Estresados” después del estímulo estresante (p no corregida). Hemisferios: derecho (D) e izquierdo (I).

Conectividad funcional por grupo después del estímulo restaurativo

Grupo de alto potencial restaurador

Al compararse las etapas de estrés y restauración se obtuvo que la conectividad funcional de la amígdala fue mayor en la etapa de restauración con los giros precentral y parahipocampal, así como con el hipocampo; mientras que disminuyó con los giro frontal medio y supramarginal (Figura 14). Valores estadísticos en Apéndice B.

Grupo de bajo potencial restaurador

Hubo un aumento de la conectividad funcional de la amígdala durante después de la presentación del estímulo restaurador con la corteza prefrontal ventromedial, la corteza del cíngulo anterior y posterior, y precuneus (Figura 14). Valores estadísticos en Apéndice B.

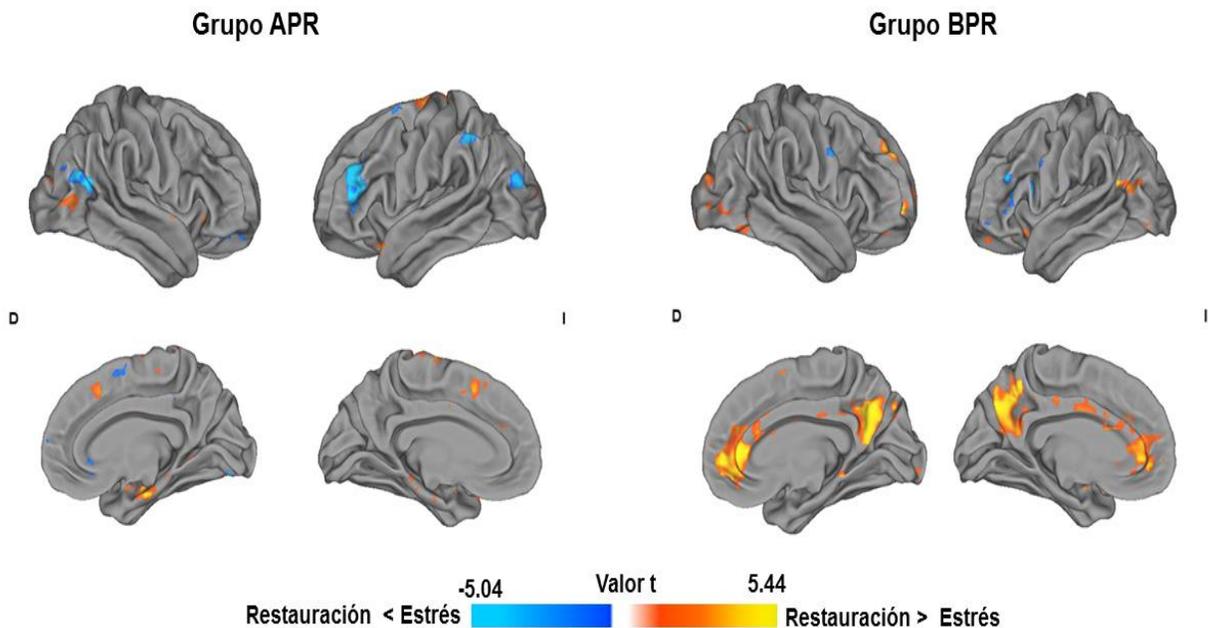


Figura 14. Cambios en la conectividad funcional de la amígdala por grupo de la muestra estresada después del estímulo restaurativo (p no corregida). Hemisferios: derecho (D) e izquierdo (I).

DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que la visualización del estímulo estresante aumenta el nivel de estrés, como consecuencia, después del estímulo restaurativo el grupo de alto potencial mostro una disminución en su nivel de estrés, contrario al grupo de bajo potencial que no mostro cambio significativo en el mismo.

Los datos fisiológicos de frecuencia cardíaca únicamente reportan un aumento significativo durante la visualización del estímulo estresante, mientras que la frecuencia respiratoria no se ve afectada por dicho estimulo.

En cuanto a la conectividad funcional de la amígdala (tanto aquellos que se estresaron como los que no lo hicieron) reportan cambios con distintas áreas del cerebro después de ver el video. Los estresados con los giros pre y post centrales y los no estresados con la corteza prefrontal ventromedial. Los muestra estresada mostro un incremento de la conectividad funcional de la amígdala con el giro frontal medio y áreas de la corteza parietal, disminuyendo con la corteza prefrontal ventromedial, el precuneus y la corteza del cíngulo anterior y posterior después observar el estímulo estresante.

En la etapa de restauración el grupo que observo imágenes con alto potencial restaurador mostro un incremento de la conectividad de la amígdala con el giro precentral, giro parahipocampal e hipocampo, disminuyendo con el giro frontal medio y el giro supramarginal con respecto de la etapa de estrés. La conectividad funcional de la amígdala en el grupo que observo imágenes de contenido urbano aumentó con la corteza prefrontal medial, el precuneus y la corteza del cíngulo anterior y posterior.

El estímulo estresante agudo está generando un aumento en el nivel de estrés que se mantiene aun después de su visualización, este tipo de estímulo ha sido utilizado en los trabajos de Marle et al. y Ossewaarde, et al. que también utilizan videos con carga emocional para inducir estrés, esto sustenta que el uso de este tipo de estímulos estresantes es suficiente para producir estrés psicológico (Marle, et. al. 2010; Ossewaarde et al. 2011;); sin embargo cabe mencionar que hubo un subgrupo de

participantes en los que el estímulo no tuvo ningún efecto significativo en el nivel de estrés, esto podría deberse a variantes individuales (como por ejemplo familiaridad con el contenido del video), capacidad de afrontamiento al estresor, antecedentes de urbanidad, entre otros factores que atenúen la generación de un estado de estrés.

A nivel conductual la comparación de la dinámica del nivel de estrés entre los grupos nos muestra que ambos grupos (APR y BPR) parten de un estado basal donde no hay diferencia significativa, después de la presentación del estímulo ambos grupos incrementaron su nivel de estrés significativamente, sin embargo, es importante destacar que aunque no existe diferencia significativas entre ellos, el grupo de APR mostro una tendencia a presentar mayor nivel de estrés que el grupo de BPR, esto pudiese ser a los distintos tamaños de muestra de cada grupo, de tal forma que si se equiparan las muestras aumentando los participantes en el grupo de BPR podría disminuirse esta tendencia. El comportamiento después de la visualización del estímulo restaurativo mostro que el grupo de APR tuvo una recuperación significativa del estado de estrés generado durante el estímulo estresante, empero esta mejoría no retorno al grupo al nivel de su estado basal pues los resultados muestran que la etapa basal y la restaurativa son significativamente distintas. Los resultados del nivel de estrés en la etapa de restauración del grupo de BPR son contrarios al grupo de APR pues aunque se observó una disminución del nivel de estrés estas etapas no son significativamente diferentes, y la etapa basal es distinta de la de restauración; por lo tanto se puede concluir que el grupo de APR si bien se restaura este no alcanza su nivel basal; por otra parte el grupo de BPR se podría decir que sigue estresado al no presentar diferencias significativa de su nivel de estrés después del video. En tanto que cada grupo fue sometido a un distinto tipo de estímulo restaurador, se podría inferir que las imágenes con alto potencial restaurador propician el proceso de restauración, pero también cabe la posible de que no fuese así y únicamente se viese el proceso de restauración por sí mismo, si esto fuese así, se puede suponer entonces que las imágenes con contenido urbano obstruyen el proceso de restauración; porque aunque la comparación entre la etapa basal de cada uno no es significativamente diferente, la comparación entre los cambios del nivel de estrés de la etapa basal a la etapa de restauración entre los

grupos muestran una tendencia a ser diferentes, esto concuerda con reportes de que los ambientes con contenido natural tienen un efecto restaurador en las personas (Kim, et al. 2010, Stigsdotter, et al. 2010; White, et al. 2013; Pearce, et al. 2015) y que en cambio aquellos lugares con alta urbanidad sin contenidos naturales no contribuyen en dichos procesos (Lederbogen, et al. 2011; Manning, et al. 2013; Martínez-Soto, et al. 2013). El efecto restaurador de las imágenes con contenido natural pudiera estar ligado a lo propuesto por Ulrich quien manifiesta que el efecto restaurador se debe a la preferencia del humano por entornos curvilíneos y distintos grados de formas y colores (Ulrich 1986), la teoría de la biofilia que investiga la relación del humano con la naturaleza propone que se prefieren este tipo de paisajes por que la evolución se ha dado mayormente en ambientes naturales (Kahn 1997; Kellert, 2008; Rosley, et al. 2014); por el contrario los ambientes urbanos se prefieren menos ya sea por contener elementos paisajísticos con pobre calidad estética y escénica (monótonos, caóticos y/o reducidos visualmente (Ulrich 1986).

En cuanto a la frecuencia cardiaca se puede observar un aumento significativo en la misma durante la presentación del estímulo, lo que concuerda con los datos de Marle et al. que observaron aumento de la misma durante la presentación de su estímulo (Marle, et al., 2010), sin embargo no hay diferencia en la frecuencia cardiaca antes y después del estímulo en los estados de reposo, resultados que concuerdan con otros estudios que al no observar diferencias significativas entre las medidas de frecuencia cardiaca que registran proponen que entonces los cambios de conectividad funcional obtenidos no están siendo influenciados por cambios significativos en la frecuencias cardiacas (Veer, et al., 2011; Quaedflieg, et al., 2015;), adicionalmente Kuehl et al. observaron que la frecuencia cardiaca durante un estado de estrés es mayor que en estado de reposo (Kuehl et al., 2015).

Respecto a la respiración de toda la muestra no hay cambios que indiquen o respalden los resultados obtenidos de la prueba de estrés subjetivo ya que de acuerdo a la literatura revisada cuando hay estrés la frecuencia respiratoria tiende a aumentar (Van Eden & Buijs 2000; Deppermann, et al., 2014; Kuehl et al., 2015) sin embargo estudios

relacionados con un estímulo estresante también han reportado la ausencia de cambios en la frecuencia respiratoria (Veer, *et al.*, 2012; Quaedflieg, *et al.*, 2015), este comportamiento puede estar vinculado a que la muestra es demasiado pequeña o que el estímulo estresante no es tan intenso como para generar un cambio en la respiración.

Al comparar el antes y después de observar el video en el grupo estresado se obtuvo que la amígdala aumento su conectividad con el giro frontal medio y áreas de la corteza parietal, áreas asociadas a la red por defecto (Bluhm, *et al.*, 2009; Dedovic, *et al.* 2009; Soares, *et al.*) , además hubo un decremento con la corteza prefrontal ventromedial, corteza del cíngulo posterior y precuneus que puede deberse a el estado de estrés generado por el estímulo estresante ya que se ha descrito que estas áreas en conjunto reducen su conectividad funcional con la amígdala en pacientes que sufren trastornos de ansiedad interrumpiendo la regulación del estado emocional (Bluhm, *et al.*, 2009; Hahn *et al.*, 2011).

Al observar la dinámica de la conectividad funcional de cada los grupo APR Y BPR después de presentados los estímulos restaurativos , se pudo observar que en el grupo de APR la conectividad de la amígdala disminuyó con las áreas cerebrales que en la etapa de estrés habían aumentado (giro frontal medio y áreas parietales) lo que pudiera estar indicando que durante la etapa de estrés estas áreas aumenta su conectividad con la amígdala para hacer frente al estrés generado, consiguientemente en la etapa de restauración esta conectividad ha disminuido lo que pudiese sugerir que la restauración se ha efectuado a cierto grado en el que la conectividad con estas áreas cerebrales no ya no es imperativa. La corteza parietal también tiene implicaciones en la regulación del estado emocional generado en conjunto con la amígdala (Xie *et al.*, 2016, Kim, *et al.*, 2011), la disminución en su conectividad respalda el efecto de restauración que se observa en este grupo.

En el grupo de BPR se pudo observar por el contrario que aquellas áreas que disminuyeron su conectividad en la etapa de estrés (corteza prefrontal ventromedial,

corteza del cíngulo posterior y precuneus), en la etapa de restauración han aumentado su conectividad con la amígdala, de acuerdo con el reporte de estrés subjetivo este grupo continuo estresado después del estímulo restaurativo, por lo tanto al aumento de la conectividad en estas áreas es debido a que está en curso el proceso de restauración, esto concuerda con los resultados de Banks, et al. que han asociado áreas de la corteza prefrontal a la atenuación de estados negativos (Banks, *et al.*, 2007) y con los de Veer, et al. que señala que un aumento en la conectividad de la amígdala con la corteza prefrontal ventromedial es necesaria para promover el proceso de restauración. Además estas áreas pertenecen a la red por defecto (Van den Huevel, et al. 2010) lo que comprueba la hipótesis de que en estrés disminuye la conectividad de la amígdala con esta red, misma que en el proceso de restauración aumenta. Marle, et al. propone que en respuesta al estrés la conectividad de la amígdala con el cíngulo anterior aumenta por la demanda de atención al estímulo, sin embargo en los resultados obtenidos no se observó un aumento de la conectividad de la amígdala con esta estructura, si no por el contrario está disminuyendo, posiblemente a una interferencia con los procesos atencionales generados por el estrés.

Por último es importante señalar que aunque los datos de neuroimagen no sobreviven la corrección por múltiples comparaciones, si marcan una tendencia que concuerda con la literatura reportada.

LIMITACIONES

Las limitantes del proyecto que deben tomarse en cuenta para la adecuada observación de los datos y futuras mejoras en las investigaciones de esta línea son las siguientes:

- La técnica de resonancia magnética funcional es una técnica que mide indirectamente la actividad neuronal del cerebro, a pesar de esto, es una técnica que permite la investigación de incógnitas en humanos sin ser invasivas.
- La presentación del estímulo estresante es estrictamente visual, omitiendo la estimulación sonora, disminuyendo así el efecto estresante. Una solución sería aumentar la potencia del estresor con contenido violento al que los participantes no estén familiarizados.
- La duración del paradigma es extensa por lo que pudo haber generado un agotamiento en los participantes.
- El número de participantes con datos fisiológicos completos es bajo, lo que impide una buena apreciación de los resultados de las medidas fisiológicas.

CONCLUSIÓN

La observación del estímulo estresante aumenta el nivel de estrés psicológico, en aquellos donde hay aumento de estrés la conectividad de la amígdala disminuye con áreas de la red por defecto, misma que durante el proceso de restauración aumenta para promover procesos sensoriales y de regulación emocional que permitan una restauración del estrés. Estos procesos son potenciados por ambientes con naturaleza, mientras que los ambientes con alta urbanidad y poco contenido natural no facilitan dichos procesos.

REFERENCIAS

Adevi, A. (2013). Stress rehabilitation through garden therapy: The garden as a place in the recovery from stress. *Urban forestry and Urban greening* 12, pp. 230-237.

Akirav, I. *et al.*, (2005). Involvement of the amygdala in the neuroendocrine and behavioral consequences of stress. *Handbook of stress and the Brain*. Vol. 15, pp. 793-801.

Adolphs, *et al.*, (2006). Role of the amygdala in processing visual social stimuli. , 156(06), pp. 363–378.

Banks, S.J. *et al.*, (2007). Amygdala-frontal connectivity during emotion regulation. *Social cognitive and affective neuroscience*, 2(4), pp. 303–12.

Brand, N., *et al.*, (1997) Induced mood and selective attention. *Perceptual and Motor Skills* 84(2): 455-463.

Buijs, R.M. *et al.*, (2000). The integration of stress by the hypothalamus, amygdala and prefrontal cortex: balance between the autonomic nervous system and the neuroendocrine system. *Progress in brain research*, 126, pp.117–32.

Cannon, W. B. (1932). *The wisdom of the body*. New York: Norton & Co. pp. 312

Cimprich, B. (1992) Attentional fatigue following breast-cancer surgery. *Research in nursing and health*, 15, pp. 199-207.

Collins *et al.*, (1995). Automatic 3-D model-based neuroanatomical segmentation. *Human Brain Mapping* 3(3): 190-208.

Dedovic, K. *et al.*, (2009). Neural correlates of processing stressful information: An event-related *RMf* study. *BrainResearch* 1293, pp. 46-60.

Demuzere, M. *et al.*, (2014). Mitigating and adapting to climate change: Multi-functional and multi-scale assessment of green urban infrastructure. *Journal of Environmental Management* 146, pp. 107-115.

Deppermann, S. *et al.*, (2014). Stress-induced neuroplasticity: (Mal)adaptation to adverse life events in patients with PTSD - A critical overview. *Neuroscience* pp. 1-12

Desikan RS, *et al.*, (2006). An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*.

Finks, G, (2010). *Stress Science: Neuroendocrinology*. Elsevier, Academic Press. Chapter V. Amygdala, pp. 362.

Fuchs, E, *et al.*, (2003). Chronic social stress: effects on limbic brain structures. *Physiology and Behavior* 79, 417-427.

Fuller, *et al.*, 2007. Psychological benefits of greenspaces increase with biodiversity. *Biology Letters*, 3, 390–394.

Gratton, A. *et al.*, (2005). Role of prefrontal cortex in stress responsivity. *Handbook of stress and the* Vol. 15, page 807-813.

Gold, A.L. *et al.*, (2015). Amygdala–Prefrontal Cortex Functional Connectivity During Threat-Induced Anxiety and Goal Distraction. *Biological Psychiatry*, 77(4), pp.394–403.

Hahn, A. *et al.*, (2011). Reduced resting-state functional connectivity between amygdala and orbitofrontal cortex in social anxiety disorder. *NeuroImage*, 56(3), pp.881–9.

Hall, B.S., *et al.*, (2015). Glucocorticoid mechanisms of functional connectivity changes in stress-related neuropsychiatric disorders. *Neurobiology of Stress*, 1, pp.174–183

Henckens, M. *et al.*, (2015) Stress-induced alterations in large-scale functional networks of the rodent brain. *NeuroImage* 105, 312-322.

Hermans, E.J. *et al.*, (2014). Dynamic adaptation of large-scale brain networks in response to acute stressors. *Trends in neurosciences*, 37(6), pp.304–14.

Hermans, E.J., *et al.*, (2014). How the amygdala affects emotional memory by altering brain network properties. *Neurobiology of learning and memory*, 112, pp.2–16.

Jenkinson, M., *et al.*, (2012) FSL. *NeuroImage*, 62:782-90,.

Jiang, S. (2014). Therapeutic landscapes and healing gardens: A review of Chinese literature in relation to the studies in western countries. *Frontiers of Architectural Research* 3, 141-153.

Kahn, P.H., (1997). Developmental Psychology and the Biophilia Hypothesis: Children's Affiliation with Nature. *Developmental Review*, 17(1), pp.1–61.

Kaplan, S. (1995). The restorative benefits of nature: toward an integrative framework. *Journal of Environmental Psychology* 15, 169-182

Kellert, S.R., (2008). *Encyclopedia of Ecology*, Elsevier.

Kiems, S. *et al.*, (2013). Resting state functional MRI connectivity predicts hypothalamus-pituitary-axis status in healthy males. *Psychoneuroendocrinology* 38, 1338-1348.

Kim, M.J. *et al.*, (2011). The structural and functional connectivity of the amygdala: From normal emotion to pathological anxiety. *Behavioral Brain Research* 223, 403-410.

Kim, M.J. *et al.*, (2011). Anxiety dissociates dorsal and ventral medial prefrontal cortex functional connectivity with the amygdala at rest. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 21(7), pp.1667–73.

Kim, T. *et al.*, (2010). Human brain activation response to visual stimulation with rural and urban scenery pictures: A functional magnetic resonance imaging study. *Science of the Total Environment* 408, 2600-2607.

King, M. *et al.*, (1983). “Measurement of Stress and Arousal: Validation of the Stress/Arousal Adjective Checklist.” *British Journal of Psychology* 74 (4): 473–479.

Kink, G. (2010). *Stress Science: Neuroendocrinology*. Mental Health Research Institute of Victoria.

Klaassens, E. *et al.*, (2013). Cortisol and induced cognitive fatigue: effects on memory activation in healthy males. *Biological Psychology* 94, pp. 467-174.

Kogler, L. *et al.*, (2015). Psychosocial versus physiological stress – meta-analyses on deactivations and activations of the neural correlates of stress reactions. *NeuroImage*, 119, pp.235–251.

Kovács, K. *et al.*, (2005) The neuropsychology and physiology stressors. *Handbook of stress and the Brain*. Vol. 15, page775 -787.

Kuehl, L.K. *et al.*, (2015). Two separable mechanisms are responsible for mental stress effects on high frequency heart rate variability: an intra-individual approach in a healthy and a diabetic sample. *International journal of psychophysiology: official journal of the International Organization of Psychophysiology*, 95(3), pp.299–303.

Kuo, F. (2001). Coping with poverty – Impacts of environment and attention in the inner city. *Environment and Behavior*, 33, 543-571.

Lazarus, R.S. & Cohen, J.B. (1977). "Environmental Stress". In I. Altman and J.F. Wohlwill (eds.), *Human Behavior and Environment*. (Vol 2) New York: Plenum.

Lee, H.-S. *et al.*, (2014). Neural changes associated with emotion processing in children experiencing peer rejection: a functional MRI study. *Journal of Korean medical science*, 29(9), pp.1293–300.

Lederbogen, F. *et al.*, (2011). City living and urban upbringing affect neural social stress processing in humans. *Nature*, 474(7352), pp.498–501. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature10190>.

Lederbogen, F. *et al.*, (2013). Urban social stress--risk factor for mental disorders. The case of schizophrenia. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*, 183, 2–6. doi:10.1016/j.envpol.2013.05.046

Levine, S. (2005). Stress: an historical perspective. *Handbook of stress and the Brain*. Vol. 15, pp. 1-21.

Liang, Z. *et al.*, (2014). Neuroplasticity to a single-episode traumatic stress revealed by resting-state *RMf* in awake rats. *NeuroImage*.

Lupien, S.J. *et al.*, (2007). The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain and cognition*, 65(3), pp.209–37.

Manning, W.J. (2013). Urban environment: recognizing that pollution and social factors can create barriers to development of more healthy and liveable cities. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 183, p.1.

Marle, H. *et al.*, (2010). Enhanced resting-state connectivity of amygdala in the immediate aftermath of acute psychological stress. *NeuroImage* 53 (2010) 348–354.

Martínez-Soto, J. & Montero, L. L. (2008). Escala de restauración ambiental percibida-EPRA: diferencias por edad y sexo en muestras de adolescentes y adultos mexicanos. En B. Rodríguez & M. Chapin (Eds.), *Linking Differences / Defining Actions*, 39th Annual Conference of the Environmental Design Research Association-edra (pp. 70-77). Oklahoma, EE. UU.: edra.

Martínez-Soto, J. *et al.*, (2013). Exploration of neural correlates of restorative environment exposure through functional magnetic resonance. *Intelligent Buildings International*, 5(sup1), pp.10–28.

Martínez-Soto, J. *et al.*, (2014) Affective and Restorative balances for three environmental categories. *Perceptual and Motor skills*, Perception 119, 3, 901-923.

Martínez-Soto, J. *et al.*, (2016) Restauración psicológica: aportaciones teóricas, metodológicas y empíricas. *Temáticas actuales de psicología*. Pág. 363.

Mazziotta et al., (2001). A probabilistic atlas and reference system for the human brain: International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Phil. Trans. Royal Soc. B Biol. Sci.* 356(1412):1293-1322.

McEwen, B.S. (2000). Stress definitions and concepts of. En: Fink, G. (Ed), *Encyclopedia of Stress*, Vol. 3 Academic Press, San Diego, page 508-509.

McEwen, B.S. et. al., (2010). What is in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. *Hormones and behavior*, 57(2), pp.105–11.

Modi, S. *et al.*, (2015). Aberrant functional connectivity of resting state networks associated with trait anxiety. *Psychiatry research*, 234(1), pp.25–34.

Mora, F. *et al.*, (2012). Stress, neurotransmitters, corticosterone and body-brain integration. *Brain Research* 1476, 71-85.

Motzkin, J.C. *et al.*, (2015). Ventromedial prefrontal cortex is critical for the regulation of

amygdala activity in humans. *Biological psychiatry*, 77(3), pp.276–84.

Ossewaarde, L. *et al.*, (2011). Stress-induced reduction in reward-related prefrontal cortex function. *NeuroImage*, 55(1), pp.345–352.

Ottoson, J., *et al.*, (2005). A comparison of leisure time spent in a garden with leisure time spent indoors: On measures of restoration in residents in geriatric care. *Landscape Research*, 30, 23-55.

Parsons, R., *et al.*, (1998). The view from the road: Implications for stress recovery and immunization. *Journal of environmental psychology*, 18, 113-140.

Pearce, L. *et al.*, (2015). Personal encounters with trees: The lived significance of the private urban forest. *Urban forestry and Urban greening* 14, 1-7.

Quaedflieg CWEM, van de Ven V, Meyer T, Siep N, Merckelbach H, Smeets T (2015) Temporal Dynamics of Stress-Induced Alternations of Intrinsic Amygdala Connectivity and Neuroendocrine Levels. *PLoS ONE* 10(5): e0124141.

R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org>

Rabinak, C. *et al.*, (2011). Altered amygdala resting-state functional connectivity in post-traumatic stress disorder. *Frontiers in psychiatry*, 2(November), p.62.

Raio, C.M. & Phelps, E.A., (2015). The influence of acute stress on the regulation of conditioned fear. *Neurobiology of stress*, 1, pp.134–146.

Romero, L.M., Dickens, M.J. & Cyr, N.E., (2009). The Reactive Scope Model - a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. *Hormones and behavior*, 55(3), pp.375–89.

Rosley, M.S.F., Rahman, S.R.A. & Lamit, H., (2014). Biophilia Theory Revisited: Experts

and Non-experts Perception on Aesthetic Quality of Ecological Landscape. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 153, pp.349–362.

Roy, A.K. et al., 2009. Functional connectivity of the human amygdala using resting state fMRI. *NeuroImage*, 45(2), pp.614–626.

Sah, P. et al., (2003). The Amygdaloid Complex : Anatomy and Physiology. , pp.803–834.

Selye, H. (1936) A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138, 32.

Shin, L.M. et al., (2010). The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(1), pp.169–91.

Soares, J. et al., (2013). Plasticity of resting state brain networks in recovery from stress. *Frontiers in human neuroscience*. Vol. 7 Article 919.

Sone, D. et al., 2015. Evaluation of amygdala pathology using 11C-methionine positron emission tomography/computed tomography in patients with temporal lobe epilepsy and amygdala enlargement. *Epilepsy Research*, 112, pp.114–121.

Steckler, T. et al., (2005). The neuropsychology of stress. *Handbook of stress and the* Vol. 15, page 25-28.

Stevens, J.S. et al., (2013). Disrupted amygdala-prefrontal functional connectivity in civilian women with posttraumatic stress disorder. *Journal of psychiatric research*, 47(10), pp.1469–78.

Stigsdotte K. et al., (2010). Health promoting outdoor environments--associations between green space, and health, health-related quality of life and stress based on a

Danish national representative survey. *Scandinavian Journal of Public Health*, 38(4), 411–7. doi: 10.1177/1403494810367468

Tosoni, A. *et al.*, (2014). Resting-state connectivity and functional specialization in human medial parieto-occipital cortex. *Brain Structure and Function*.

Tost, H. *et al.*, (2015). Environmental influence in the brain , human welfare and mental health. , 18(10).

Ulrich, R. S. (1984). View through a window may influence recovery from surgery. *Science*, 224, 420–421.

Ulrich, R.S., (1986). Human responses to vegetation and landscapes. *Landscape and Urban Planning*, 13, pp.29–44.

Ulrich, R. *et al.*, (1991). Stress recovery during exposure to natural and urban environments. *Journal of Environmental Psychology* 11, 201-230.

United Nations. (2014). World urbanization prospects. The 2014 Revision. Department of Economic and Social Affairs, New York.

Van Eden, C.G. & Buijs, R.M., (2000). Functional neuroanatomy of the prefrontal cortex: autonomic interactions. *Progress in brain research*, 126, pp.49–62.

Van der Berj, A., *et al.*, (2003) Environmental preference and restoration: (How) are they related? *Journal of Environmental Psychology* 23, 135-146.

Van den Heuvel, P. *et al.*, (2010). Exploring the brain network: a review on resting-state *RMf* functional connectivity. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 20(8), pp.519–34.

Van der Werff, S.J.A. *et al.*, (2013). Neuroimaging resilience to stress: a review. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7(May), pp.1–14.

Veer, I. *et al.*, (2011). Beyond acute social stress: increased functional connectivity between amygdala and cortical midline structures. *NeuroImage*, 57(4), pp.1534–41.

Veer, I. *et al.*, (2012). Endogenous cortisol is associated with functional connectivity between the amygdala and medial prefrontal cortex. *Psychoneuroendocrinology* 37, 1039-1047.

Von Linder, E., *et al.*, (2013). Occupational engagement as a contrast on restoration during leisure time in forest settings. *Landscape and Urban Planning* 118, 90-97.

White, P. *et al.*, (2013). Would you be happier living in a greener urban area? A fixed-effects analysis of panel data. *Psychological Science*, 24(6).

Wilson, M.A. *et al.*, (2015). Stress as a one-armed bandit: Differential effects of stress paradigms on the morphology, neurochemistry and behavior in the rodent amygdala. *Neurobiology of Stress*, 1, pp.195–208.

Winkler, A.M. *et al.*, 2014. Permutation inference for the general linear model. *NeuroImage*, 92, pp.381–397.

Woods, A.J. *et al.*, (2014). Space, time, and causality in the human brain. *NeuroImage*, 92, pp.285–97.

Xie, X. *et al.*, (2016). How do you make me feel better? Social cognitive emotion regulation and the default mode network. *NeuroImage*, 134, pp.270–280.

Yan, C.G., *et al.*, (2016). DPABI: Data Processing & Analysis for (Resting-State) Brain Imaging. *Neuroinformatics*.

Zotev, V. *et al.*, 2016. Correlation between amygdala BOLD activity and frontal EEG asymmetry during real-time fMRI neurofeedback training in patients with depression. *NeuroImage: Clinical*, 11, pp.224–238.

LISTA DE ABREVIACIONES

ANDEVA Análisis de varianza

APR Alto potencial restaurativo

BPR Bajo potencial restaurativo

LVA-EA Lista de verificación de adjetivos de estrés y activación

RMf Resonancia magnética funcional

RMf-er Resonancia magnética funcional en estado de reposo

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Áreas del cerebro asociadas al procesamiento de estresores físicos y psicológicos.....	10
Figura 2. Respuesta fisiológica al estrés.....	11
Figura 3. Áreas cerebrales relacionadas al estrés.....	14
Figura 4. Imágenes con escenas violentas del video “Faces of Death #1”.....	28
Figura 5. Imágenes restaurativas.....	29
Figura 6. Paradigma experimental dentro del resonador magnético.....	29
Figura 7. Semilla de amígdala para mapas de conectividad funcional.....	30
Figura 8. Niveles de estrés subjetivo.....	33
Figura 9. Niveles de estrés subjetivo por grupo.....	34
Figura 10. Cambios de la frecuencia cardiaca de la muestra estresada.....	35
Figura 11. Cambios de la frecuencia respiratoria de la muestra estresada.....	38
Figura 12. Cambios en la conectividad funcional de la amígdala de la muestra estresada y no estresada.....	42
Figura 13. Cambios en la conectividad funcional de la amígdala con la muestra estresada después del estímulo estresante.....	43
Figura 14. Cambios en la conectividad funcional de la amígdala por grupo de la muestra estresada después del estímulo restaurativo.....	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efectos de la respuesta a estrés.....13

Tabla 2. Mascara de regiones de interés utilizadas en el análisis de conectividad funcional de la amígdala.....32

APÉNDICES

Apéndice A. Resultados estadísticos del nivel de estrés

Tabla 3. Análisis estadísticos de los niveles de estrés subjetivo durante las etapas basal y de estrés.

Prueba t pareada Basal - Estrés	Valor <i>t</i>	<i>p</i>-valor
Muestra	4.7	3.205E-05
Estresados	7.72	3.36E-08
No estresados	1.098	0.283
ANDEVA etapas basales	F= 1.02	0.363
Comparaciones (Tukey)	Valor <i>t</i>	<i>p</i>-valor
Muestra-Estresados	0.63	0.803
Muestra-No estresados	1.02	0.564
Estresados-No estresados	1.43	0.328
ANDEVA etapas de estrés	F= 7.18	0.0013
Comparaciones (Tukey)	Valor <i>t</i>	<i>p</i>-valor
Muestra-Estresados	1.67	0.223
Muestra-No estresados	3.79	0.0008
Estresados-No estresados	2.71	0.022

Tabla 4. Análisis estadístico de los cambio del nivel de estrés subjetivo de la muestra estresada para cada grupo de restauración.

ANDEVA APR (medidas repetidas)	F= 21.41	1.61E-06
Comparaciones (Tukey)	Valor t	p-valor
Basal-Estrés	4.63	9.36E-05
Estrés-Restauración	2.24	0.0303
Basal-Restauración	2.39	0.0303
ANDEVA BPR (medidas repetidas)	F= 11.51	p < 0.0004
Comparaciones (Tukey)	Valor t	p-valor
Basal-Estrés	3.16	0.0107
Estrés-Restauración	2.28	0.3872
Basal-Restauración	0.87	0.0443

Tabla 5. Comparación entre grupos del nivel de estrés subjetivo de la muestra estresada para cada etapa.

Prueba t APR - BPR	Valor t	p-valor
Etapa basal	0.65	0.51
Etapa de estrés	1.93	0.07
Etapa de restauración	0.49	0.68
Cambio de basal a estrés	1.82	0.08
Cambio de estrés a restauración	1.48	0.15

Apéndice B. Resultados de conectividad funcional de la amígdala.

Tabla 6. Valores estadísticos de la conectividad funcional de la amígdala en etapa basal y de estrés comparando las muestras estresada con no estresada.

Estructura	Hemisferio	Coordenadas MNI152			Valor <i>t</i>	<i>p</i> -valor
		(mm)				
		X	Y	Z		
Etapas basales: Estresados > No estresados (amarillo)						
Corteza lateral occipital	I	-54	-78	12	2.96	0.006
Cíngulo anterior	D	2	30	4	2.90	0.022
Etapas basales: Estresados < No estresados (azul)						
Giro frontal superior	I	-10	42	56	3.11	0.008
	D	22	70	16	3.68	0.004
Etapas de estrés: Estresados > No estresados (amarillo)						
Giro postcentral	I	-46	-14	27	2.94	0.003
Giro precentral	D	34	-22	72	3.21	0.011
Giro precentral	I	-30	10	24	3.65	0.01
Etapas de estrés: Estresados < No estresados (azul)						
Corteza prefrontal ventromedial	D	22	42	-4	5.03	0.01
Giro frontal superior	I	-10	66	24	1.72	0.028

Tabla 7. Datos y valores estadísticos de la conectividad funcional de la amígdala de la muestra estresada después del estímulo estresante.

Estructura	Hemisferio	Coordenadas MNI152			Valor <i>t</i>	<i>p</i> -valor
		(mm)				
		X	Y	Z		
Estresados: Estrés > Basal (amarillo)						
Giro frontal medio	I	-42	50	20	4.25	0.001
Giro supramarginal	I	-26	-42	40	3.51	0.006
Etapa basal: Estrés < Basal (azul)						
Corteza prefrontal ventromedial	D	2	45	-1	2.37	0.03
Cíngulo anterior	D	14	30	24	3.79	0.007
Cíngulo posterior	D	14	-34	24	1.95	0.003
Precuneus	D	14	-58	37	1.91	0.017

Tabla 8. Datos y valores estadísticos de la conectividad funcional de la amígdala del grupo APR después del estímulo restaurador.

Estructura	Hemisferio	Coordenadas MNI152			Valor <i>t</i>	<i>p</i> -valor
		(mm)				
		X	Y	Z		
Estresados APR: Restauración > Estrés (amarillo)						
Giro precentral	I	-6	14	72	3.06	0.015
Giro parahipocampal	D	22	-18	-20	3.1	0.002
Hipocampo	I	-12	-9	-21	2.22	0.003
Estresados APR: Restauración > Estrés (azul)						
Giro frontal medio	I	-38	34	20	4.62	0.003
Giro supramarginal	I	50	-42	40	5.04	0.003

Tabla 9. Datos y valores estadísticos de la conectividad funcional de la amígdala del grupo APR después del estímulo restaurador.

Estructura	Hemisferio	Coordenadas MNI152			Valor <i>t</i>	<i>p</i> -valor
		(mm)				
		X	Y	Z		
Estresados BPR: Restauración > Estrés (amarillo)						
Corteza prefrontal ventromedial	D	14	54	0	4.61	0.01
Cíngulo anterior	D	18	30	21	2.96	0.01
Cíngulo posterior	I	-6	-42	36	3.75	0.01
Precuneus	I	-2	-70	44	5.44	0.01
Precuneus	D	2	-60	36	4.01	0.01
Etapa basa BPR: Restauración > Estrés (azul)						
Giro frontal medio	I	-50	42	20	4.69	0.01