



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN PSICOLOGÍA
Facultad de Estudios Superiores Iztacala**

Efecto del estrés agudo por restricción sobre la memoria y la ansiedad: participación de la noradrenalina en la CPF y Núcleo Estriado.

**TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN PSICOLOGÍA**

**PRESENTA:
Norma Laura García Saldívar**

TUTORES

Dra. Sara E. Cruz Morales. Directora de Tesis. FES Iztacala

Dr. Roberto Domínguez Casalá. Tutor. FES Zaragoza

Dr. Florencio Miranda Herrera. Tutor. FES Iztacala

Dr. J. C. Pedro Arriaga Ramírez. Tutor. FES Iztacala

Dra Gina L. Quirarte. Tutor Instituto de Neurobiología



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

El trabajo se realizó en la Universidad Nacional Autónoma de México en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala en el laboratorio de Psicofarmacología dirigido por la Dra. Sara E. Cruz Morales y con la colaboración del Laboratorio de Biología de la Reproducción de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, a cargo del Dr. Roberto Domínguez Casalá y con el apoyo técnico de la Dra. Juana Monroy Moreno. La investigación fue respaldada por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (Proyecto No. IN300806).

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la Dra. Sara E. Cruz Morales que con su experiencia, conocimientos y paciencia me dirigió e hizo posible la culminación de este trabajo. Gracias por su amistad que se ha ido forjando durante todos estos años. De corazón muchas gracias.

Al Dr. Roberto Domínguez Casalá por el tiempo que dedicó a la realización del trabajo, ya que con sus conocimientos, orientación, dedicación y enseñanzas lo hicieron posible, gracias por su apoyo y amistad.

Al Dr. Florencio Miranda Herrera por su apoyo y consejos a través de todo el doctorado, su valiosa intervención me permitió llegar al final de éste proyecto.

Al Dr. Pedro Arriaga Ramírez y a la Dra. Gina L. Quirarte por sus comentarios y correcciones, por ayudarme a realizar un mejor trabajo.

Quiero agradecer a la Dra. Juanita Monroy por la dirección en el procesamiento bioquímico de las muestras de cerebro.

Especialmente a mis compañeras Mary y Gina, grandes amigas, que con sus conocimientos y sus chascarrillos han hecho muy placentero los años que llevamos trabajando juntas. Sin su ayuda no hubiera sido posible el desarrollo experimental de la tesis. Muchas gracias.

A mis amigos Psiscila, José y Manuel, que gracias al gran equipo que formamos, hicieron posible el arduo trabajo de laboratorio, de corazón muchas gracias.

DEDICATORIA

A la memoria de mis padres con todo mi amor y respeto.

A mis hijos, Ceci, Norberto, José Javier, Karina, Isabel y Guillermo por su apoyo, sus risas, sus porras y su respaldo en todos los ámbitos de mi vida. Gracias por ser mi fuente de inspiración y la fuerza que me impulsa a seguir día a día en esta vida llena de oportunidades pero también de obstáculos, sin ustedes no lo hubiera logrado. De corazón muchas gracias.

A mis nietos Marijo, Andrea, Diego y la pequeña que estamos esperando con tanto amor, ustedes son y seguirán siendo la luz de mi vida.

A mis hermanas Benilde, Irma, Gloria y Marcela por todas las cosas buenas que aportan a mi vida, por acompañarme en este camino. Siempre estaremos juntas.

INDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. ESTRÉS.....	4
2.1. Fisiología del estrés	5
2.2. Tipos de estresores	7
2.3. Modelos animales para el estudio del estrés.....	8
2.3.1. Estrés por restricción de movimiento	8
2.4. Estrés y memoria	9
3. APRENDIZAJE Y MEMORIA	10
3.1 Aprendizaje.....	10
3.1.1. Aprendizaje no asociativo.	10
3.1.2. Aprendizaje asociativo	11
3.2 Memoria	12
3.2.1. Tipos de memoria	12
3.2.2. Neurobiología de la memoria	13
3.2.3. Neurofarmacología de la memoria	16
3.2.4. Evitación inhibitoria como modelo para evaluar memoria	17
4. ANSIEDAD.....	19
4.1. Tipos de ansiedad	19
4.2. Neurobiología de la ansiedad	20
4.3. Neurofarmacología de la ansiedad	21
4.4. Modelos animales que evalúan ansiedad.....	22
4.5. Ansiedad y memoria.....	23
5. CORTEZA PREFRONTAL (CPF)	25
5.1. Neuroanatomía de la CPF.....	25
5.1.1. Organización estructural en la CPF	26
5.1.2. Conexiones de la CPF	27
5.1.3 Sistemas de neurotransmisión de la CPF.....	29
5.2. Ejemplos de la participación de la CPF en diversas funciones	30
6. ESTRIADO	33
6.1. Neuronas del estriado	34
6.2. Conexiones del estriado.....	35
6.2.1. Sistema cortico-estriatal	36

6.3. Funciones de los núcleos basales	36
6.4. Participación de regiones estriales en los procesos de memoria	39
7. NORADRENALINA	41
7.1. Vías noradrenérgicas del LC	41
7.2. Síntesis.....	42
7.3. Receptores	45
7.4. Noradrenalina y estrés	46
7.5. Ejemplos de la modificación del sistema noradrenérgico en los procesos de memoria, ansiedad y estrés.....	46
8. CORTICOSTERONA	48
8.1. Efectos de la corticosterona en la memoria y en la ansiedad	48
9. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	50
10. OBJETIVO GENERAL	52
11. METODOLOGÍA	53
11.1. Método General	58
11.2. Análisis estadístico	61
12. EXPERIMENTOS.....	62
Experimento 1. Estresores	62
Experimento 2. Efecto del estrés sobre la memoria de la tarea de EI	67
Experimento 3. Efectos del estrés, sobre la memoria y ansiedad evaluadas en el LT	73
Experimento 4. Efectos del estrés sobre la ansiedad evaluada en el LEC.....	79
13. DISCUSIÓN GENERAL	85
14. CONCLUSIONES.....	92
15. REFERENCIAS	93

RESUMEN

El estrés induce respuestas fisiológicas y conductuales que activan al eje hipotálamo-pituitario-adrenal, estimulan cambios en las monoaminas y la secreción de glucocorticoides; estos cambios dependen de las características del estresor. Se analizaron los efectos del estrés por restricción (R) sobre memoria y ansiedad en procedimientos ejecutados a diferentes tiempos después del estrés y los cambios en el sistema noradrenérgico de la corteza prefrontal (CPF) y el estriado dorsal (ED), y la concentración de corticosterona en plasma en ratas Wistar.

De 4 experimentos, en el 1º, se evaluó el efecto de los estresores R (15 min) y choque (2.5 mA) y la exposición del entrenamiento en la cámara de evitación inhibitoria (EI), en laberinto elevado en T (LT), y el laberinto elevado en cruz (LEC); los animales se sacrificaron 0, 1 o 24 h después. En el 2º se evaluó la memoria en la cámara de EI, en el 3º la memoria y la ansiedad en el LT y en el 4º la ansiedad en LEC. El efecto de la R sobre la memoria y la ansiedad (Experimentos 2, 3, 4), en los que las tareas se ejecutaron a 0, 1 o 24 h después de la R los animales se sacrificaron al concluir la tarea. Los controles solo ejecutaron la tarea y se sacrificaron 0, 1 o 24 h después. Los resultados mostraron que la respuesta del sistema noradrenérgico de la CPF y del ED dependió del tipo de estresor; la R y el choque aumentaron la concentración de corticosterona. La R en la tarea de EI, no deterioró la memoria ni la actividad noradrenérgica en la CPF y en el ED la actividad aumentó dependiendo del tiempo en el que se ejecutó la tarea después de la R. La R provocó amnesia en la tarea de LT, no modificó la actividad noradrenérgica en la CPF y en el ED la actividad fue mayor cuando la tarea se ejecutó 1 h después de la R. La concentración del metabolito MHPG en la CPF, en el grupo 24 h fue menor respecto al grupo R 24, en el ED los resultados fueron contrarios. La R no modificó la respuesta de ansiedad; el sistema noradrenérgico de la CPF y del ED, respondieron de manera diferente a los efectos de la R y de la R seguida de la exposición al LEC.

El estrés por R activó al sistema noradrenérgico en CPF y el ED, los cambios producidos pueden modular a los procesos de memoria y ansiedad. El estrés agudo indujo a través del tiempo cambios, que dependen del tipo de estresor y el momento de la evaluación en el sistema noradrenérgico de la CPF, el ED y corticosterona en plasma.

1. INTRODUCCIÓN

El estrés puede ser definido como la respuesta de un organismo a un estímulo aversivo (estresor) que amenaza su equilibrio interno (homeostasis). Tales estímulos son percibidos y evaluados por un sistema cognoscitivo/emocional, que induce una variedad de cambios neuroendocrinos, metabólicos y conductuales en un intento para maximizar la probabilidad de mantener el equilibrio interno frente a la sobredemanda. Cuando el estrés es más intenso ocurre una serie de ajustes no específicos. Estos ajustes pueden llevar a respuestas que aumentan la actividad fisiológica como resultado de la interacción de factores medioambientales y psicológicos. La intensidad y la naturaleza de la respuesta dependerán de las características de cada individuo y pueden afectar el sistema inmune, balance neuroendocrino y bienestar de los individuos produciendo graves patologías en humanos y animales (Ramos & Morméde, 1998).

La reacción fisiológica inmediata al estrés se caracteriza por la liberación de catecolaminas (Rioja et al., 2007). La respuesta secundaria es algo más lenta (15-20 minutos) depende de la especie en estudio y el estresor, y se caracteriza por la liberación de corticosteroides por la corteza adrenal vía una cascada de eventos que ocurren en el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA). En la organización de la respuesta ante un estímulo aversivo participan diversas estructuras cerebrales, entre ellas el hipotálamo, sistema septohipocampal, la amígdala, el cíngulo, la corteza prefrontal (CPF), así como el cerebro posterior, regiones del tallo cerebral como el núcleo parabraquial, núcleo cuneiforme y el núcleo del rafe dorsal (Carrasco & Van de Kar, 2003; Mora, Segovia, del Arco, de Blas & Garrido, 2012).

El sistema noradrenérgico participa en la regulación de la respuesta y adaptación al estrés (Nakane, Shimizu & Hori, 1994). Los eventos estresantes activan al sistema noradrenérgico del locus coeruleus (LC), sistema que contribuye a la regulación de las respuestas conductuales al estrés y la ansiedad. Los efectos del estrés sobre el sistema noradrenérgico dependen del estresor, tiempo de acción y regiones estudiadas, lo que explica que se describan aumentos, disminuciones de la actividad del sistema o la no existencia de cambios (McDevitt et al., 2009; Pudovkina, Kawahara, Vries & Westernik, 2001; Singewald & Philippu, 1998).

El estrés modula los procesos de aprendizaje, memoria y ansiedad (Gunnar & Quevedo, 2007). Los centros nerviosos que participan en estos procesos presentan traslape entre ellos, como ocurre con la CPF que interviene tanto en la regulación de la memoria como en la ansiedad (Keeley, Bye, Trow & McDonald, 2014). En animales sometidos a distintos tipos de entrenamiento, la administración de muscimol (agonista GABAérgico) o de ácido aminofosfonopentanóico (AP5) (antagonista glutamatérgico selectivo a receptores NMDA) aplicados inmediatamente, a los 90 o 180 min después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria, a las 24 h provocó amnesia, lo cual no ocurrió cuando la inyección se realizó 270 min después del entrenamiento (Souza et al., 2000). La inyección de ácido iboténico en esta misma región reduce la ansiedad medida en las pruebas de laberinto elevado en cruz y de interacción social (Shah & Treit, 2003), en animales sometidos a estímulos aversivos o experiencias de ansiedad, aumenta la liberación de corticosterona y en la CPF se incrementa la concentración de noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT) (Sahgal et al., 1990; Tomie, Tirado, Yu & Pohorecky, 2004).

Dependiendo del tipo, la duración e intensidad del estresor, el someter a los animales a diferentes estresores resulta en señales nerviosas y endocrinas que llegan a múltiples poblaciones de neuronas localizadas en diferentes regiones del cerebro como la CPF (Adamec, Toth, Haller, Halasz & Blundell, 2012; Holmes & Wellman, 2009; Xiao-Min et al., 2014) y el núcleo estriado dorsal (ED) (Algeri et al., 1988; Zucker, Weizman & Rehavi, 2005). El enfrentar a los animales a diferentes tipos de tarea puede afectar de manera diferencial la memoria y la ansiedad. En la rata, uno de los modelos más utilizados para evaluar la memoria es la tarea de evitación inhibitoria de dos vías y para evaluar ansiedad es el laberinto elevado en cruz (LEC). El laberinto elevado en T (LT) es un modelo en el que evalúa al mismo tiempo la memoria y ansiedad.

2. ESTRÉS

En la actualidad, el estrés (del inglés *stress*, „tensión“) es un problema de salud pública importante ya que afecta a un gran número de personas, de tal manera que el término estrés se ha convertido en un vocablo habitual de nuestra sociedad actual (Schwabe, Joëls, Roozendaal, Wolf & Oitzl, 2012). Hans Selye (1907-1982) introdujo el término “estrés” como una respuesta no específica del organismo ante cualquier demanda que se le imponga (la demanda se refiere a la causa del estrés). El estresor se define como el agente causante que mantiene el estrés y la respuesta resultante (Pacák & Palkovits, 2001).

El término estrés puede ser utilizado con un sentido negativo y se denomina “distrés”, pero algunas veces se refiere a cambios que promueven o conducen a sentimientos de alegría o entusiasmo como un estrés “bueno” (eustrés). Más frecuentemente la palabra estrés es usada en sentido negativo para describir estados crónicos de desequilibrio como respuesta a los estresores. En el presente estudio se adoptó la definición propuesta por Goldstein y McEwen (2002) que puntualiza al estrés como la respuesta adaptativa del cuerpo que mantiene la homeostasis alterada por los factores estresores y que puede ser llamada “alostasis” por la cual “se consigue estabilidad a través del cambio”. El estrés induce cambios neuroendócrinos, metabólicos y conductuales en un intento para maximizar la probabilidad de éxito sobre la demanda, que cuando ésta no es superada puede provocar distintas patologías, desórdenes mentales o ambas. En el Manual de Diagnóstico y Estadística de Desórdenes Mentales (DSM IV, por sus siglas en inglés), de la American Psychiatric Association (APA), el estrés se define como un evento traumático que causa intenso miedo, vulnerabilidad (desamparo) o ambos en un individuo. El progreso en los estudios neurobiológicos del estrés proviene de la investigación animal y de los aportes de la neuroquímica, neuroendocrinología y neuroimágenes. Los animales son modelos excelentes para el estudio del estrés ya que continuamente aprenden de experiencias que son clasificadas como estresantes, Martín et al., (2000), definen al estrés en animales como un estado desfavorable y dañino a la condición de vida del animal.

2.1. Fisiología del estrés

Las respuestas de adaptación a un estresor agudo incluyen procesos fisiológicos y de comportamiento que son esenciales para mantener el equilibrio homeostático. La adaptación conductual incluye un aumento de la excitación, el estado de alerta y vigilancia, mejora de la actividad cognoscitiva; atención enfocada; y euforia o disforia. También incluye una mayor analgesia y elevaciones de la temperatura corporal, con la inhibición concomitante de las funciones vegetativas, tales como el apetito, la alimentación, y la reproducción (Chrousos, 2007). Los procesos fisiológicos redirigen la utilización de la energía entre los diversos órganos e inhiben o estimulan selectivamente diversos sistemas para movilizar las reservas de energía y estar preparado para la exposición a desafíos impredecibles adicionales (Pacák & Palkovits, 2001).

La respuesta al estrés está determinada total y completamente por el sistema nervioso central y la coordinación que éste ejerce sobre los tres sistemas corporales encargados de mantener la homeostasis: los sistemas nervioso autónomo, endocrino e inmunológico. Dicha respuesta al estrés incluye la participación de neurotransmisores centrales y periféricos, como la NA por parte de la división simpática del sistema nervioso; así como liberación de hormonas por las glándulas suprarrenales, que secretan adrenalina en la zona medular y glucocorticoides en la corteza.

En la respuesta endocrina al estrés intervienen las hormonas prolactina, que inhibe la función del sistema reproductivo; el glucagón, que estimula el catabolismo del glucógeno; la arginina vasopresina, que incrementa la presión arterial lo que resulta en un mayor flujo sanguíneo y energético a los músculos, regula el balance del agua y electrolitos corporales la somatostatina, que inhibe la secreción de la hormona de crecimiento; las endorfinas y encefalinas, que aumentan el umbral al dolor; la oxitocina, que incrementa los efectos de la hormona de liberación de corticotropina (CRH) sobre la síntesis y liberación de la hormona adrenocorticotropa (ACTH); la colecistoquinina, la galanina, el péptido vasoactivo intestinal, la angiotensina II y la neurotensina, que facilitan la liberación de ACTH.

La cascada de eventos que conduce a la producción de glucocorticoides por la corteza adrenal comienza con la liberación de la CRH y la arginina vasopresina (AVP) por las células en los núcleos paraventricular del hipotálamo. La CRH y AVP viajan a la

hipófisis anterior por el sistema portahipofisiario y estimulan la liberación de la hormona ACTH, la cual se une a receptores en la corteza de la glándula suprarrenal y estimula la secreción de glucocorticoides (GCs) (cortisol en humanos y corticosterona en roedores), a la circulación general. Los GCs entran en el citoplasma de las células de todo el cuerpo y el cerebro, donde interactúan con sus receptores. Los receptores activados se desplazan hacia el núcleo de la célula, donde regulan la transcripción de genes en regiones sensibles a GCs. La acción de los GCs en tejidos diana implica cambios en la transcripción de genes, lo que explica que los efectos de los GCs elevados pueden tardar muchos minutos u horas para ser reconocidos y pueden continuar ejerciendo efectos sobre la fisiología y el comportamiento durante períodos prolongados (Gunnar & Quevedo, 2007).

Los glucocorticoides son los efectores finales del eje HPA y los principales reguladores del mismo al interactuar con receptores celulares ubicados en la hipófisis, regiones hipotalámicas como el LC, algunos núcleos de los nervios craneales, la región ventral y subicular del hipocampo, el núcleo central de la amígdala, la CPF, el septum lateral y los núcleos de rafé (Guyton & Hall, 1997; Ziegler & Herman, 2002). En la figura 1, se representa el sistema HPA en el humano.

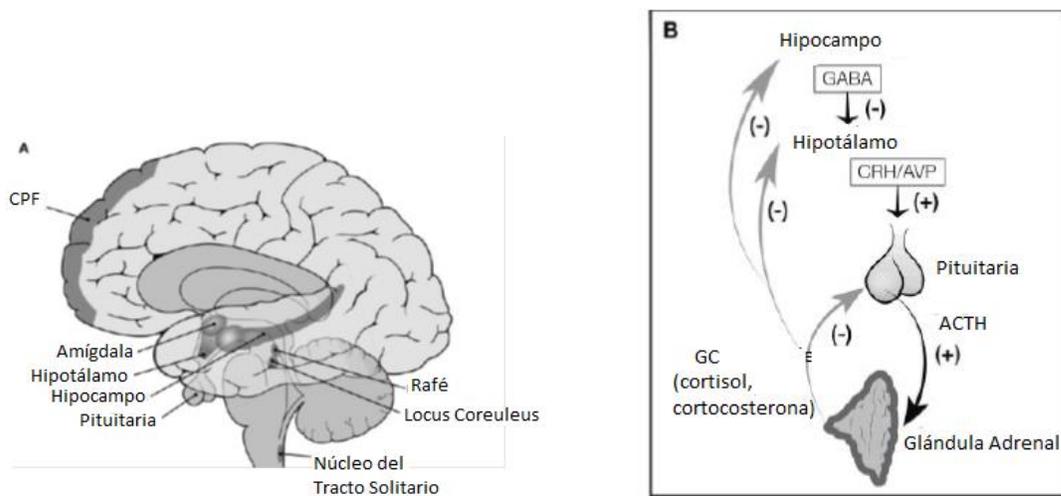


Figura 1. Anatomía del sistema del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) (B) y las estructuras que son importantes en su regulación (A). La activación (+) e inhibición (retroalimentación) (-) de las vías del sistema HPA. El incremento en glucocorticoides (GC) se inicia por la hormona de liberación-coticotrópica/arginina- vasopresina (CRH/AVP) desde la región medial parvocelular del núcleo paraventricular (PVN) en el hipotálamo. La inhibición por retroalimentación negativa opera a través de los glucocorticoides (GCs), actuando al nivel de la pituitaria, e hipocampo. Hormona

adenocorticotrópica (ACTH); amígdala; ácido gamma aminobutírico (GABA); hipocampo; hipotálamo; Núcleo del Tracto solitario; Corteza Prefrontal (CPF) (Modificado de Gunnar & Quevedo, 2007)

Otro componente del sistema de respuesta al estrés es el sistema nervioso simpático que es estimulado por la excitación, vigilancia o una emergencia. Cuando algo de esto sucede, el sistema simpático transmite el mensaje desde la médula espinal a la médula adrenal y se estimula la liberación de adrenalina y NA, las que actúan como hormonas a nivel periférico.

2.2. Tipos de estresores

Los estresores se dividen en cuatro categorías: 1) estresores físicos como el frío, el calor, el ruido intenso y otros, y como estresores químicos los venenos y las drogas; 2) estresores psicológicos que reflejan una respuesta aprendida a experiencias previas en condiciones adversas, afectan los procesos emocionales y pueden resultar en cambios conductuales tales como la ansiedad, el miedo o la frustración; 3) estresores sociales en donde se reflejan disturbios entre individuos, como ejemplo en humanos está la separación marital; y 4) estresores que alteran la homeostasis cardiovascular y metabólica tales como el ejercicio, la hipoglicemia o las hemorragias (Bowers, Bilbo, Dhabhar & Nelson, 2008).

En términos de su duración los estresores se dividen en dos categorías: agudos cuando se presenta una sola exposición con límite de tiempo y crónicos que pueden ser exposiciones al estresor en forma intermitente y prolongada o exposiciones continuas.

La intensidad del estresor es un parámetro clave para establecer hasta qué punto una situación es más o menos estresante e incluye un continuo de posibilidades desde intensidades leves, moderadas o fuertes. Según la naturaleza del estresor la intensidad influye en el impacto producido sobre la reactividad fisiológica y psicológica del individuo. La frecuencia de la presencia del estresor es determinante para establecer la relación estrés-enfermedad. Las consecuencias de un estrés agudo serán distintas a un estrés que se repite en el tiempo hasta constituirse en una situación crónica (Mercier et al., 2003).

2.3. Modelos animales para el estudio del estrés

La utilización de modelos animales para estudiar las respuestas y consecuencias fisiológicas y conductuales al estrés, permite abordar numerosas cuestiones que en los humanos sería difícil o imposible de ejecutar. Hay que tener en cuenta que diferentes tipos de estresores inducen distintas respuestas fisiológicas, que incluyen la activación de diferentes patrones en el cerebro y que no necesariamente se acompañan de cambios bioquímicos y fisiológicos (Bowers et al., 2008).

Los estresores en los modelos animales se clasifican en:

Estresores biológicos. Se manipula el estado fisiológico del organismo, por la privación de alimento, bebida o sueño entre otros.

Estresores psicológicos. Se sitúa a los animales en un ambiente novedoso o de conflicto en donde aprenden a desarrollar una respuesta o conducta determinada para obtener un premio o refuerzo. Cuando consiguen éste aprendizaje se modifican las condiciones experimentales.

Estresores sociales. Se basan en las tendencias innatas de las conductas y en los modos de organización característicos de cada especie. Como ejemplos se puede citar el aislamiento de los sujetos en jaulas independientes, el hacinamiento de sujetos en una sola jaula; aislamiento previo de los machos de modo que al hacerlos coincidir en un mismo entorno tendrán que luchar para establecer un orden jerárquico entre ellos y por el reparto o dominio del territorio.

Estresores de tipo físico. El modelo más utilizado son los choques eléctricos que se pueden administrar en las patas de los animales a través de un suelo electrificado ó en alguna parte del cuerpo. Otro estresor es el ruido (intensidad y frecuencia). La aplicación de temperaturas extremas y la inmovilización entre otros (Ho, Eichendorff & Schwarting, 2002).

2.3.1. Estrés por restricción de movimiento

En la rata uno de los procedimientos para producir estrés es restringir el movimiento durante cierto tiempo, para luego someterlos a un procedimiento conductual y evaluar el efecto del estrés (Zerbib & Laborit, 1990). Hans Selye fue el primero que utilizó

el estrés por inmovilización en ratas las cuales manifestaron el síndrome del estrés: hipertrofia adrenal, ulceración gástrica e involución tímico-linfática (Glavin, 1986).

La diferencia entre restricción e inmovilización es que la restricción es intensa, pero no se sujeta en su totalidad al animal dejando la cabeza libre; mientras que la inmovilización es más completa (el sujeto queda inmovilizado en su totalidad) lo que resulta en una mayor incidencia de lesiones. La restricción es un modelo que es simple efectivo, confiable y reproducible para producir una rápida respuesta de estrés (Paré & Glavin, 1986).

Los animales pueden habituarse a episodios prolongados o repetidos de restricción. La habituación involucra una adaptabilidad o conservación de la magnitud de las respuestas centrales monoaminérgicas (como las noradrenérgicas) al estrés. Las respuestas al estrés son diferentes dependiendo de la especie, cepas, edad, sexo, dieta, hora y época del año en que se realice el estrés (Glavin, Paré, Sandbak, Bakker & Murison, 1994).

2.4. Estrés y memoria

El estrés afecta la memoria (Shors, 2001), la dirección de este efecto depende del tipo de estresor, la excitación emocional, el sexo del individuo estresado y de las interacciones entre estos factores, lo que resulta en la facilitación, el deterioro, o la falta de efectos sobre la memoria (Buchanan, 2007; Hoscheidt, LaBar, Ryan, Jacobs & Nadel, 2014; Roozendaal & McGaugh, 2011; Sandi & Pinelo-Nava, 2007; Schwabe et al., 2012).

En la rata, el estrés agudo por inmovilización produce respuestas opuestas sobre la memoria espacial dependiendo del género, la memoria se deteriora en los machos y la facilita en las hembras independientemente de la etapa del ciclo estral en la que se encuentren. En éstas últimas, los cambios en la concentración de corticosterona dependen del día del ciclo estral en estudio, la concentración de corticosterona en hembras tratadas en el día del proestro fue mayor que en las sometidas a restricción en el día del estro (Conrad et al., 2004).

3. APRENDIZAJE Y MEMORIA

Las expresiones “aprendizaje y memoria” remiten a dos realidades distintas. El aprendizaje se considera un cambio en la conducta como resultado de la experiencia, mientras que la memoria es el registro de la experiencia que subyace en el aprendizaje, es decir la capacidad de almacenar y recuperar experiencias pasadas (Anderson, 2001; Baddeley, 1994).

3.1 Aprendizaje

El aprendizaje se define como un cambio relativamente permanente en la conducta como resultado de la experiencia, que no se debe a un estado transitorio, a la maduración o a tendencias de respuesta innata (Klein, 1995), lo que excluye los cambios debidos a la fatiga, el uso de drogas y el crecimiento (Hilgard & Bower, 1989). Es un cambio en la conducta que tiene lugar mediante la práctica o la experiencia. Es la adquisición de una respuesta conductual frente a un estímulo ambiental (Sweatt, 2003). Los resultados del aprendizaje se pueden observar tanto en las habilidades intelectuales como en las motoras, ya que ambas proveen las bases para sobrevivir.

3.1.1. Aprendizaje no asociativo.

El aprendizaje no asociativo es aquel en el que se produce un cambio en la conducta como resultado de la experiencia repetida de un único estímulo. En el aprendizaje no asociativo se describen dos fenómenos: La sensibilización, que es un fortalecimiento de la respuesta a una amplia variedad de estímulos que sigue a un estímulo intenso o nocivo, es decir, es una facilitación para responder a los estímulos incluso a los que antes no generaba respuesta. La habituación es un descenso de la respuesta a un estímulo moderado repetitivo, es un proceso contrario a la sensibilización, que consiste en dejar de responder a los estímulos que carecen de importancia biológica (Gasbarri, Pompili, Packard & Tomaz, 2014).

3.1.2. Aprendizaje asociativo

Uno de los principios más antiguos que se conocen del aprendizaje es el de asociación. Mediante la asociación de respuestas del organismo a una variedad de situaciones estimulantes, la conducta del sujeto cambia. Estos cambios se reazan por dos tipos de condicionamiento, el clásico y el operante.

La primera descripción científica de los principios del condicionamiento clásico fue realizada por Ivan Pavlov en 1900. Mientras realizaba una serie de experimentos sobre la digestión y la salivación de los perros, descubrió que tras varios ensayos en que se ponía alimento en la boca de un perro, éste comenzaba a salivar a la vista del alimento, luego al ver el recipiente del alimento y por último hasta con los pasos del investigador (respuesta incondicionada (RI)). La salivación ante el estímulo asociado con la presentación de comida recibió el nombre de respuesta condicionada (RC). En este estudio clásico la presentación de un estímulo neutro (EN) produce sólo una respuesta de orientación y después de algunos cuantos segundos se presenta la carne o estímulo incondicionado (EI). Tras varios apareamientos del EN y el EI, el perro presenta la respuesta de salivación ante la presentación del estímulo neutro, ahora estímulo condicionado (EC). Cuando esto ocurre se ha establecido una respuesta condicionada (Rachlin, 1986).

En el condicionamiento operante o instrumental propuesto por B. F. Skinner, el animal emite una respuesta (por ejemplo, presionar una palanca), y esta se refuerza, por ejemplo, con alimento. La presentación del reforzador aumenta la probabilidad de ocurrencia de la respuesta, es decir que el animal repite la acción una y otra vez. Las características del condicionamiento operante es el uso de refuerzos y la afirmación de que la conducta esta mediada por sus consecuencias (Ardila, 1974). Un reforzador es un estímulo cuya presentación aumenta la probabilidad de ocurrencia de una misma respuesta. Al procedimiento de presentación de reforzadores se le llama reforzamiento, el cual puede ser positivo o negativo. El procedimiento de reforzamiento positivo consiste en la presentación de un reforzador como consecuencia de la emisión de una respuesta. La emisión de una respuesta seguida por un reforzador positivo, aumenta la probabilidad de ocurrencia de dicha respuesta. Mientras que, en el reforzamiento negativo, los estímulos son aversivos, como los choques eléctricos, o la estimulación visual, auditiva o térmica intensa, que producen en el sujeto un estado de dolor o malestar que el sujeto tratará de

aliviar de igual manera que en el caso del hambre o la sed, por lo que cuando se termina un estímulo aversivo se refuerza la conducta que pone fin a dicho estímulo. En el condicionamiento con reforzamiento negativo cada respuesta correcta del sujeto termina (escape) o pospone (evitación) la aparición del estímulo aversivo, lo que hace que se incremente la probabilidad de ocurrencia de la respuesta (Reynolds, 1973).

3.2 Memoria

La memoria se refiere a los procesos por los cuales retenemos los conocimientos adquiridos, es un sistema de almacenamiento y recuperación de la información (Bermudez-Rattoni, 2014). La formación de la memoria pasa por 3 fases: adquisición, consolidación y la recuperación. La adquisición es la etapa en la cual se adquiere el aprendizaje, la consolidación es la fase en la cual se fija la memoria, la cual requiere de tiempo, la memoria es muy vulnerable durante la consolidación, y finalmente es necesario conseguir el acceso a la información almacenada (recuperarla). La consolidación se lleva a cabo en unos cuantos minutos después de la experiencia (Prado-Alcalá & Quirarte, 2007). La entrada de la información al encéfalo se procesa en un almacén de memoria a corto plazo. Este tiene una capacidad muy limitada pudiendo durar minutos. La información es transformada posteriormente mediante algún tipo de proceso a un almacenaje a largo plazo más permanente (Kandel, Jessell & Schwartz, 1996). Diferentes tipos de información se adquieren, almacenan y recuperan de diferentes maneras, por lo que se puede hablar de diferentes tipos de memorias.

3.2.1. Tipos de memoria

Existen diferentes clasificaciones de la memoria:

La memoria a corto plazo incluye la manipulación de la información sobre nuestra experiencia actual, es un proceso activo de duración limitada y la memoria a largo plazo almacena las experiencias pasadas, y se considera un cambio real de la estructura del sistema nervioso. La memoria a largo plazo puede dividirse en dos formas según el tiempo en el que se haya obtenido: anterógrada o inmediata (menos de 10 minutos) o retrógrada o mediata (por tiempo prolongado) y tiene capacidad ilimitada que permite almacenar grandes cantidades de información (Sweatt, 2003).

La memoria puede ser implícita y explícita según como se almacena y se recuerda la información. La memoria explícita o declarativa es la recuperación de manera consciente, es el tipo de memoria voluntaria. Puede ser memoria semántica (información general de los conocimientos) o episódica (memoria autobiográfica contextualizados en tiempo y espacio). (Squire, 2004). La memoria implícita o no declarativa, o de procedimiento es la memoria que supone la recuperación no intencional del material previamente presentado (habilidades motoras y cognoscitivas) (Ballesteros, Reales & Manga, 1999). La memoria no declarativa se divide en cuatro subsistemas que son el de las habilidades y hábitos, el del *priming* (que se presenta cuando la ejecución es facilitada o entorpecida por información a la que se tuvo acceso recientemente), el de aprendizajes asociativos básicos (que se subdivide a su vez en las respuestas emocionales y en las musculares) y el de aprendizajes no asociativos (Kandel, Jessell & Schwartz, 1996).

La información emocional es procesada de manera diferente a la información neutral (Wolf, 2008). El sistema que nos ayuda a fijar los recuerdos a partir de las emociones es el sistema de la memoria emocional. El impacto de las emociones funciona en estrecha relación con la memoria declarativa (explícita) y no declarativa (implícita) (LaBar & Cabeza, 2006).

3.2.2. Neurobiología de la memoria

Existen varias teorías sobre cómo se desarrolla el proceso de la memoria. La capacidad de la memoria está basada en fenómenos neurales por lo que existe la hipótesis de que la formación de la memoria está distribuida o localizada en distintas regiones del cerebro y se ha señalado que existe una disociación entre las regiones relacionadas con la adquisición y el almacenamiento de diferentes tipos de memoria. Cuando se produce un daño en alguna estructura de los sistemas de memoria se deterioran el aprendizaje y la memoria de unas tareas, pero no de otras, lo que indica que los procesos neurales que se procesan en cada tarea utiliza diferentes mecanismos dentro del cerebro que conllevan los procesos de memoria (Gold, 2004).

Según White y McDonald (2002) existen tres sistemas neurales de memoria que están organizados en el cerebro en una serie de módulos independientes que funcionan en

paralelo. Cada sistema tiene una estructura principal: el hipocampo, el estriado dorsal y la amígdala. Por ello, los sistemas son referidos por los nombres anatómicos de las estructuras principales: el sistema hipocampal, sistema estriado-dorsal y sistema de la amígdala.

El sistema del hipocampo procesa información acerca de la relación de las señales del medio ambiente, es decir la memoria declarativa. Este sistema incluye al hipocampo, la corteza entorrinal, el subículo (al cual proyecta el hipocampo), y la corteza de la región parahipocampal (Eichenbaum, 1997; Eichenbaum, Schoenbaum, Young & Bunsey, 1996; Kandel, et.al., 1996).

El sistema del estriado dorsal está involucrado críticamente en el aprendizaje y la memoria de procedimiento, lo que implica la formación de hábitos de estímulo-respuesta, es decir procesa la memoria no declarativa. El estriado dorsal contiene la memoria de procedimiento. Lesiones en el estriado dorsal deterioraron la adquisición de una prueba de memoria de procedimiento y no la adquisición en una prueba de memoria declarativa. (Packard, 2009a).

El sistema de la amígdala también procesa información que involucra señales individuales que ocurrieron cuando los animales fueron expuestos a ciertas situaciones de aprendizaje, respuestas generadas por un reforzador procesadas en este sistema es decir la memoria emocional (Squire, 2004).

En la amígdala se adquieren y retienen recuerdos duraderos de experiencias emocionales (McGaugh, 2004). La amígdala basolateral (ABL), es fundamental para la adquisición y el almacenamiento de la memoria de situaciones que producen miedo. En una prueba de evitación activa la lesión electrolítica del 42% de la ABL, deterioró la memoria (Kádár et al., 2014). Según Buchanan (2007), la amígdala, en combinación con el hipocampo y la CPF, juega un papel importante en la recuperación de recuerdos de eventos emocionales.

White y McDonald (2002) propusieron la existencia de “Sistemas múltiples de memoria en paralelo”. El concepto de que los sistemas pueden actuar paralelamente, implica que diferentes clases de información de cada condición sea procesada en un sistema diferente y único. Una sola prueba de aprendizaje espacial puede tener diferentes

condiciones, por ejemplo, memoria emocional y de trabajo. En estos sistemas son posibles dos clases de interacciones; primero, las salidas de un sistema pueden interactuar o emerger de uno o más puntos, produciendo tendencias conductuales que pueden interactuar cooperativamente o competitivamente. Segundo, existen conexiones anatómicas directas entre los sistemas. Estas dos condiciones implican que la actividad en un sistema puede actuar directamente en otro sistema y promover o impedir el procesamiento de la información, así como promover cambios sinápticos que conlleven a interacciones que pueden ser de tipo competitivo o cooperativo (Colombo & Gold, 2004).

Prado-Alcalá y Quirarte (2007) proponen que los sistemas de memoria pueden actuar en paralelo en la consolidación de la memoria. Numerosos tratamientos farmacológicos (como agonistas GABAérgicos o antagonistas colinérgicos) o diferentes estresores como la restricción de movimiento en ratas, pueden producir amnesia. En el momento en que ocurre una experiencia, los efectos amnésicos son menores, hasta llegar un momento en que se tornan totalmente inefectivos. El período de vulnerabilidad marca la duración del proceso de consolidación.

Cuando se interfiere con la actividad normal de una estructura cerebral determinada, se produce una deficiencia en la consolidación o en la retención de la memoria, es decir existe un conjunto de núcleos cerebrales indispensables para que se establezca la memoria, y basta con que uno de ellos no funcione correctamente para que la información derivada del aprendizaje no se almacene. Prado-Alcalá y Quirarte (2007), postularon que estas estructuras están conectadas funcionalmente en serie, y que la información derivada de una experiencia de aprendizaje debe transitar por todas ellas para llegar a algún “centro de integración”, de cuya activación depende la consolidación de la memoria y que cuando la información se interrumpe es debido a que alguno de los componentes de este ensamblaje de estructuras no funciona correctamente y, por lo tanto, no se produce la consolidación. Un segundo modelo postula que las estructuras que originalmente estaban conectadas en serie (u otras estructuras sumadas a las originales) ahora sufren un cambio, conectándose funcionalmente en paralelo. De esta forma, aunque alguna de las estructuras del circuito no funcione normalmente o esté dañada, la actividad derivada de la experiencia de aprendizaje podrá seguir su trayecto hacia el posible “centro

de integración”, facilitando la consolidación de la memoria (Dudai, 2004; Prado-Alcalá, et al., 2007).

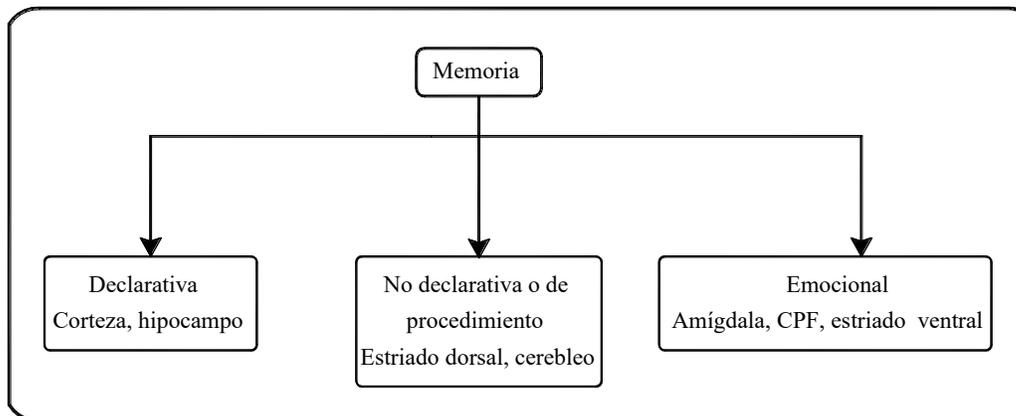


Figura 2. Sistemas de la memoria (Squire, 2004; White & McDonald, 2002).

3.2.3. Neurofarmacología de la memoria

Las neuronas se conectan entre sí en forma de redes, lo que permite una comunicación interneuronal compleja. Esta organización en red es particularmente evidente en relación con la función cognoscitiva. Las interacciones de estos sistemas se caracterizan por utilizar diferentes neurotransmisores en la comunicación entre las diferentes regiones y tipos de neuronas. En estudios experimentales en animales, se analizan los efectos de otros neurotransmisores ajenos a las redes en estudio, sobre el aprendizaje y la memoria. La disminución o el aumento en los niveles de los neurotransmisores, la activación o el bloqueo de los diferentes receptores relacionados con los neurotransmisores indican que otros mecanismos pueden alterar el aprendizaje y la memoria (Zarrindast, 2006).

La acetilcolina es un neurotransmisor que participa en los procesos de aprendizaje y memoria. Los agonistas colinérgicos producen facilitación de la adquisición y retención de la memoria, mientras que los antagonistas producen deterioro en ambas (García-Saldívar & Cruz-Morales, 2000). La administración sistémica de escopolamina (antagonista colinérgico), a ratas entrenadas con diferentes intensidades de choque en una tarea de evitación inhibitoria, produjo amnesia cuando los animales fueron entrenados con

intensidades moderadas, lo que no ocurrió cuando se administraba en sujetos entrenados con intensidades bajas (Quirarte, Cruz-Morales, Díaz Del Guante, García & Prado-Alcalá, 1993), o con intensidades altas (Cruz-Morales, Durán-Arevalo, Díaz Del Guante, Quirarte & Prado-Alcalá, 1992).

Por su influencia en regiones corticales y subcorticales, los sistemas monoaminérgicos DA, NA y serotonina (5-HT) participan en los procesos cognoscitivos. La amplia distribución de estas redes monoaminérgicas es una de las principales dificultades para el análisis de sus funciones e interacciones (Levin, 2006). La reducción de actividad de la DA cerebral que ocurre como una parte del envejecimiento se asocia con cambios en sistema motor, así como las funciones cognoscitivas (Govoni, 2009). Estudios en nuestro laboratorio muestran que la restricción de movimiento deteriora la memoria de evitación en un laberinto elevado en T y disminuye la actividad serotoninérgica en el estriado dorsal. El deterioro de la memoria parece estar asociado con cambios en el sistema serotoninérgico estriatal, que se explica por los efectos de diferentes factores del estrés sobre la capacidad de las neuronas serotoninérgicas para sintetizar el neurotransmisor (Cruz-Morales et al., 2008). La inhibición de la síntesis de la NA por medio de la inactivación del LC, no afecta la adquisición en una prueba de evitación inhibitoria, pero si a la consolidación y a la retención (Khakpour-Taleghani, Lashgari, Motamedia & Naghdi, 2009).

3.2.4. Evitación inhibitoria como modelo para evaluar memoria

Uno de los procedimientos más comunes para evaluar el efecto de fármacos en la memoria de animales es el reforzamiento negativo, y concretamente el procedimiento de evitación activa y pasiva. El procedimiento de evitación pasiva, también llamado evitación inhibitoria, consiste en entrenar a los sujetos a evitar un estímulo aversivo por medio de la inhibición de sus respuestas en donde los sujetos aprenden la tarea después de un único ensayo (Gold, 1986). Las ventajas del empleo de estos paradigmas son: la tarea es rápidamente aprendida, se requiere de un solo ensayo, por lo que se tiene el control del momento en que se inicia la consolidación de la memoria; las respuestas se mantienen estables a lo largo del tiempo; y los resultados son equivalentes a los resultados obtenidos a otros procedimientos. Las respuestas que se miden empleando estos procedimientos, son el

número de ensayos, número de aciertos y errores, latencias etc. (Bammer, 1982). De esta manera es posible estudiar la memoria a corto y largo plazo. Los efectos de los fármacos en la respuesta de evitación pasiva son evaluados por su administración antes o después del entrenamiento, antes de la prueba o antes del entrenamiento y la prueba.

4. ANSIEDAD

La ansiedad se presenta en respuesta a varios factores estresantes que pueden ser fisiológicos, ambientales o ambos, y aunque la ansiedad se considera un fenómeno emocional común en la vida cotidiana, puede causar alteraciones patológicas. Las investigaciones clínicas en enfermedades psiquiátricas reconocen una serie de síndromes ansiosos que implican sustratos biológicos diferentes (Clement & Chapouthier, 1998).

El término ansiedad hace referencia a un estado emocional, un síntoma, o un conjunto de síntomas que se presentan como reacción ante situaciones de peligro, estrés, conflicto, como resultado de un trauma, por consumo de drogas o por presencia de una enfermedad; todos los cuales pueden deteriorar el funcionamiento normal (Cruz-Morales, González López, Gómez-Romero & Arriaga-Ramírez, 2003), mientras que el miedo, se considera como una reacción a situaciones de peligro las cuales son reales y bien definidas (Boissay, citado en: Ramos & Mormède, 1998), lo que hace que sea diferente a la ansiedad. En el DSM IV, la ansiedad se define clínicamente como un estado de aprensión o tensión difusa o vaga, frecuentemente acompañado de una o más sensaciones físicas inducidas por la expectativa del peligro, dolor o la necesidad de un esfuerzo especial.

Las respuestas a la ansiedad pueden afectar a todos los sistemas orgánicos, alterar todos los aspectos de la conducta y matizar casi todos los estados de ánimo y las emociones. Entre los signos o cambios de conducta se describen la poca concentración (distracción), el aumento de la reactividad, la falta de motivación, el aumento en los trastornos del lenguaje, las compulsiones, la preocupación obsesiva, los actos motores repetitivos, la disminución de la capacidad de aprendizaje o para resolver problemas. En las respuestas fisiológicas hay aumento de la frecuencia cardiaca, hiperventilación, cefaleas, mareos, poliuria, sudoración profusa, aumento de las secreciones gástricas entre otros (Cruz-Morales et al., 2003).

4.1. Tipos de ansiedad

El estado de ansiedad incluye manifestaciones físicas y mentales no atribuibles a peligro verdadero, que ocurren con ataques o en estado de persistencia al peligro (Belzung

& Griebel, 2001). En el DSM IV se distinguen diferentes tipos de ansiedad entre las que se incluyen desórdenes de pánico con o sin agorafobia, fobia, desorden obsesivo-compulsivo, trastorno por estrés agudo o postraumático y ansiedad generalizada.

Estudios experimentales han analizado las estructuras y neurocircuitos asociados con las respuestas de ansiedad, sobre todo en roedores, utilizando principalmente el condicionamiento del miedo, la evitación inhibitoria y los modelos de sobresalto potenciada por miedo (Shin & Liberzon, 2010).

4.2. Neurobiología de la ansiedad

Los trastornos del estado de ánimo y de la ansiedad se caracterizan por una variedad de afecciones neuroanatómicas, neuroendócrinas y de alteración en la síntesis y liberación de los neurotransmisores (Kalueff, 2007). La identificación de las alteraciones en su funcionamiento se complica por el alto grado de interconectividad entre las áreas corticales del cerebro, circuitos límbicos y del tronco del encéfalo. El mal funcionamiento de los circuitos involucrados en los estados de ansiedad puede llevar a una psicopatología. Las alteraciones del estado de ánimo pueden estar influenciadas por las experiencias ambientales y la predisposición genética (Shin & Liberzon, 2010).

En la modulación de la ansiedad intervienen los sistemas motor, sensorial, endocrino, inmune, cardiovascular y neural. Numerosas estructuras cerebrales median las respuestas conductuales y fisiológicas de la ansiedad, como la amígdala (y sus subnúcleos), el núcleo accumbens (incluyendo la cama del núcleo de la estría terminal) (BNST), el hipocampo, el hipotálamo ventromedial, la sustancia gris periacueductal, varios núcleos del tronco encefálico, núcleos talámicos, corteza insular, y algunas regiones de la corteza prefrontal (corteza cingular, infralímbica y prelímbica) (Millan, 2003; Shin & Liberzon, 2010).

Los circuitos neuroanatómicos implicados en el proceso de la ansiedad, se concentran alrededor de la amígdala. La amígdala es la que primero detecta la amenaza, coordina la respuesta vía proyecciones ascendentes a las áreas motoras y con proyecciones descendentes a los núcleos del tallo cerebral que controlan las respuestas autónomas y excitatorias. También procesa la información sensorial por dos vías: una vía monosináptica

desde el tálamo sensorial a la amígdala y una vía multisináptica que coordina la información desde las áreas sensitivas de asociación y estructuras mesotemporales corticales. La amígdala recibe información desde diversas regiones del cerebro como la CPF media, el hipocampo y el circuito cortico-estriato-talámico (Kent, Mathew & Gorman, 2002). Algunos autores han sugerido que puede haber sistemas de miedo y ansiedad por separado orquestados a través del núcleo central de la amígdala y la BNST, respectivamente (Davis, 2006).

Existen evidencias de la participación de la amígdala en la memoria afectiva o emocional. En la rata, las lesiones en la amígdala bloquean el efecto estimulante de la administración de adrenalina y glucocorticoides sobre la memoria. Después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria, el estímulo de los receptores β -adrenérgicos de la amígdala mejoró la memoria, mientras que el bloqueo de los receptores β -adrenérgicos bloqueó la modulación de la memoria (McGugh, Cahill & Roozental, 1996).

4.3. Neurofarmacología de la ansiedad

Los sistemas noradrenérgico, GABAérgico, glutamatérgico, serotoninérgico, colinérgico, los opioides y las hormonales influyen sobre los circuitos mencionados (McGaugh et al., 1996).

En ratas adolescentes (juveniles de 229g) sometidas a una prueba de conflicto social en el hipocampo aumenta la concentración de NA y 5-HT y disminuye la de DA en la CPF. A partir de estos resultados se sugiere que la tensión social en ratas adolescentes produce déficit en las respuestas de ansiedad y la función monoaminérgica es alterada (Watt, Burke, Renner & Forster, 2009).

Con el uso de medicamentos ansiolíticos ha sido posible analizar cuales son los circuitos de neurotransmisión que participan en la ansiedad. Las benzodiazepinas son utilizadas en el tratamiento de la ansiedad, los trastornos del sueño, algunas formas de epilepsia, y en condiciones particulares por sus características de relajantes musculares y amnésicos (File, 1987; Stephens & King, 2013). Las benzodiazepinas facilitan la transmisión inhibitoria mediada por el GABA ya que se unen a los receptores GABA_A.

4.4. Modelos animales que evalúan ansiedad

El desarrollo de modelos animales de ansiedad y de estrés han ayudado a identificar los mecanismos farmacológicos y los posibles efectos clínicos de varios medicamentos, así como la comprensión de la neurobiología de las enfermedades psiquiátricas (Campos, Manoela, Fogaça, Aguiar & Guimaraes, 2013).

Los modelos de ansiedad en animales miden respuestas conductuales o fisiológicas ante estímulos estresantes o novedosos. Treit (1985) reconoce tres tipos de pruebas de ansiedad: las basadas en respuestas incondicionadas (por ejemplo, conductas exploratorias, consumatorias y sociales), las basadas en paradigmas de aprendizaje (por ejemplo, condicionamiento en evitación activa y pasiva) y las basadas en aprendizajes aversivos en formas filogenéticamente preparadas (condicionamiento de aversión al sabor). Las pruebas basadas en aprendizaje condicionado frecuentemente utilizan estímulos físicos nocivos tales como choques eléctricos, privación de agua, comida o ambas. Para establecer una relación entre los modelos animales con los humanos, Clement y Chapouthier (1998), utilizan modelos que reproducen algunos de los síntomas observados en humanos, tales como situaciones de conflicto, respuesta emocional condicionada y prueba de interacción social.

Entre las pruebas más utilizadas para medir la ansiedad, se encuentran los modelos basados en la conducta exploratoria de los sujetos como el campo abierto, compartimento luz-oscuridad, la interacción social, el laberinto elevado en cruz (LEC), lo cual les da cierta validez dado que se apoyan en la conducta incondicionada y espontánea de los sujetos (Cruz-Morales et al., 2003). El LEC consiste en un laberinto en forma de cruz, con dos brazos abiertos y dos cerrados, y está elevado del suelo 50 cm. Este modelo se basa en el miedo incondicionado que tienen los roedores a los espacios abiertos, requiere de poco tiempo (usualmente de cinco minutos) para adquirir la respuesta de ansiedad y no requiere entrenamiento. Se basa en la actividad exploratoria para lo cual se mide el número de entradas a los brazos abiertos y cerrados, el tiempo de permanencia a los brazos abiertos y cerrados, el número total de entradas que son índices de diferentes componentes como la ansiedad, y la actividad motora (Campos et al., 2013; Costa, Tamascia, Nogueira, Casarini & Marcondes, 2012; Cruz, Frei & Graeff, 1994; Cruz-Morales et al., 2003; Hogg, 1996; Jones, Duxon & King, 2002; Korte & De Boer, 2003).

4.5. Ansiedad y memoria

Tanto en humanos como en roedores, la ansiedad puede alterar la memoria por lo que existe la posibilidad de que la ansiedad y la memoria interactúen (Kalueff, 2007). La presentación de estímulos aversivos se asocian con la liberación de las hormonas del estrés y de neuropéptidos que afectan la atención, motivación, excitación o vigilancia, el aprendizaje, la memoria y ansiedad (Croiset, Nijsen, & Kamphuis, 2000).

Para el estudio de la memoria y ansiedad se utiliza el laberinto elevado en T (LET), un procedimiento derivado del LEC, que consiste en un brazo cerrado y dos brazos abiertos, y permite evaluar al mismo tiempo la ansiedad y la memoria. En este modelo a los sujetos se les somete a tres ensayos consecutivos de evitación a los brazos cerrados y un ensayo de escape del brazo abierto. Se asume que las respuestas de los sujetos representan respuestas condicionadas (evitación) y respuestas incondicionadas como el miedo (escape). Un día más tarde se evalúa la memoria exponiendo al sujeto una sola vez al brazo cerrado y tomando el tiempo que tarda en salir al brazo abierto (latencias de evitación) y para evaluar la ansiedad se expone una sola vez al brazo abierto y se toma el tiempo que tarda en entrar al brazo cerrado (latencias de escape) (Conde, Costa & Tomaz, 1999; Cruz-Morales et al., 2003). Otros investigadores utilizan el LET como modelo exclusivamente de ansiedad (Carvalho-Netto & Nunes-de-Souza, 2004; Graeff, Ferreira & Zangrossi, 1998).

Los efectos de la exposición al LET sobre la memoria y la ansiedad han sido probados administrando a ratas diazepam o ipsapirona, una azapirona que no tiene efectos amnésicos. En dosis altas ambas drogas deterioraron la memoria de evitación inhibitoria, un efecto que puede deberse al efecto ansiolítico. Tres días más tarde el diazepam en las mismas dosis provocó amnesia anterógrada, mientras que la ipsapirona no deterioró la memoria, aunque el escape fue alterado por las dos drogas. Por ello se propone que el LET puede ser útil para analizar la disociación entre memoria y ansiedad (Conde, Costa & Tomaz, 1999; Viana, Tomaz & Graeff, 1994).

A partir de los resultados obtenidos en estudios diseñados para diferenciar la participación de estructuras cerebrales en la memoria y la ansiedad, Trivedi y Coover,

(2004) concluyen que el hipocampo ventral y dorsal están involucrados diferencialmente en la evitación inhibitoria en el LET.

La ansiedad y el estrés afectan la memoria tanto en humanos como en animales, lo que plantea la posibilidad de que la memoria y la ansiedad interactúen. Aunque ambas pueden ser afectadas de manera independiente, es importante entender que la memoria y la ansiedad representan dos procesos del sistema nervioso central que se superponen estrechamente, y que por tanto pueden interactuar en diferentes niveles, incluyendo la neuroquímica cerebral, circuitos, farmacología y genes (Kalueff, 2007).

5. CORTEZA PREFRONTAL (CPF)

En los mamíferos, el polo anterior de la corteza del cerebro es comúnmente designado como CPF. La complejidad morfológica de la CPF, especialmente en los vertebrados, hace improbable su homogeneidad funcional. La CPF es la parte de la corteza cerebral que recibe proyecciones desde el núcleo medio-dorsal del tálamo (Fuster, 1988). En los humanos se le considera como la región donde se realizan las funciones cognitivas más elevadas, tales como el pensamiento, la toma de decisiones, el juicio, razonamiento y la planeación. La CPF protege a estas representaciones frágiles de la interferencia de distracciones externas o internas, y es clave para inhibir acciones inapropiadas y la promoción de las operaciones pertinentes. Todas estas capacidades dependen de las conexiones de redes neuronales (Arnsten, 2009).

5.1. Neuroanatomía de la CPF

La CPF es una colección de áreas neocorticales interconectadas que envían y reciben proyecciones prácticamente de todos los sistemas corticales como el sensorial y el motor, y de muchas estructuras subcorticales (Miller & Cohen, 2001).

En humanos, la parte funcional de la corteza cerebral comprende principalmente una fina capa de neuronas de 2 a 5 milímetros de espesor que cubre la superficie de todas las circunvoluciones del cerebro. Está formada por capas con diferentes tipos celulares. Capa I o capa molecular: es escasa en neuronas, la mayoría de las células son gliales; Capa II o granular externa, formada por células granulares pequeñas, con dendritas que ascienden a la Capa I y axones descendentes a las capas más profundas. Capa III o piramidal externa constituida por abundantes neuronas piramidales que se distinguen en dos grupos, uno superficial en relación con la capa granular formado por neuronas de tamaño pequeño y una subcapa profunda formada por neuronas de mayor tamaño. Las dendritas de éstas neuronas se dirigen a la primera capa y los axones a la profundidad. Capa IV o granulosa interna, integrada por células estrellas (granulares). Capa V o piramidal interna, constituida por neuronas piramidales de mediano y pequeño tamaño, las de mayor tamaño ascienden al estrato I, mientras que las de menor tamaño terminan en la capa IV o incluso en el V. Capa VI o capa fusiforme, contiene neuronas fusiformes de

tamaños variables cuyos ejes se orientan perpendicularmente a la superficie cortical (Valadez, 2006).

5.1.1. Organización estructural en la CPF

La CPF juega un papel crítico en múltiples funciones cognoscitivas y límbicas. Dada la importancia de la CPF, el estudio de la función de los circuitos individuales de la CPF en modelos animales ha proporcionado una visión crítica de la base neural de los comportamientos subyacentes en diferentes conductas y condiciones psiquiátricas.

En la rata parte de la CPF media es análoga a la CPF dorsolateral del cerebro de los primates (Bailey & Mair, 2004) y participa en funciones cognitivas. La CPF dorsolateral tiene amplias conexiones con cortezas sensoriales y motoras y es clave para la regulación de la atención, el pensamiento y la acción (Arnsten, 2009).

En la rata, la CPF es una región heterogénea que se ubica en la región más rostral del lóbulo frontal, no posee una capa granular interna bien definida. La ausencia de ésta condujo a varios autores a sugerir que la CPF estaba ausente en esta especie (Uylings, Groenewen & Kolob, 2003).

En la CPF de la rata se identifican varias regiones (Figura 3). Según Morgane, Galler y Mokler (2005), la división frontal media puede ser subdividida en una región dorsal, que incluye la corteza precentral y la corteza cingulada anterior (que corresponde al área 24 de Brodmann), y un componente ventral que incluye las cortezas prelímbica (que corresponde al área 32 de Brodmann), infralímbica y orbital medial. La segunda es una región lateral que incluye la corteza dorsal, insular agranular ventral y la orbital lateral. Finalmente, una región ventral que incluye las cortezas órbito-ventral y orbital lateral (Dalley, Cardinal & Robbins, 2004).

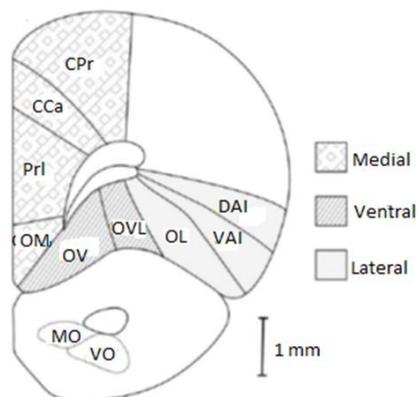


Figura 3. Diagrama de la CPF de rata (sección coronal unilateral), aproximadamente 3.5 mm hacia el frente de bregma. Los 3 diferentes sombreados representan las 3 subdivisiones principales de la CPF (medial, ventral y lateral). Abreviaciones: CCa, corteza cingulata anterior; DAI, corteza dorsal agranular insular; VAI, corteza ventral agranular insular; OM, núcleo olfatorio medial anterior; OV núcleo olfatorio ventral anterior, LO, corteza orbital lateral; MI, área motora primaria; COM, corteza orbital media; CPc corteza precentral; CPI, corteza Prelímbica; VLO, corteza orbital ventrolateral; VO, corteza orbital ventral (Modificado de Dalley, et al., 2004).

5. 1. 2. Conexiones de la CPF

La CPF participa en numerosos circuitos corticales y subcorticales que están funcionalmente segregados, que controlan funciones sensorimotoras, cognitivas, emocionales/motivacionales y viscerales.

Las conexiones cortico-corticales reflejan la especialización funcional de las distintas regiones. Las principales, como son el área motora y la corteza cingulada, proyectan recíprocamente a áreas corticales sensorimotoras y de asociación, así como a la corteza visual y perirhinal. El área prelímbica y la infralímbica tienen interconexiones con cortezas de asociación límbica temporal perirhinal, hipocampo e insular granular, la cual se conecta recíprocamente con regiones olfativas y gustativas (Groenewegen & Uylings, 2000).

La CPF recibe aferencias desde los ganglios basales, vía proyecciones estriato-palidal, estriato-nigral, pálido-talámicas y nigro-talámicas, que proyectan en paralelo a diferentes áreas de la CPF. También recibe proyecciones cortico-corticales, desde la corteza parietal posterior y las áreas sensoriales corticales, y tiene conexiones con estructuras subcorticales (sustancia nigra (SN), área tegmental ventral, amígdala,

hipotálamo lateral e hipocampo). Igualmente existen conexiones recíprocas desde la CPF a éstas estructuras, así como proyecciones directas al septum lateral, mesencéfalo y regiones autonómicas del tallo cerebral (Courtin, Bienvenu, Einarsson & Herry, 2013).

La corteza órbito frontal y parte de la corteza de asociación límbica se conectan directamente con la amígdala y por ende está relacionada con la conducta emocional (Guyton & Hall, 1997). La CPF también tiene una conexión con el núcleo medio dorsal del tálamo (MD). La conectividad con el tálamo es en gran medida recíproca y está organizada topográficamente (Heidbreder & Groenewegen, 2003).

En la Figura 4 se representan algunas de las conexiones intrínsecas y extrínsecas de la CPF. La convergencia parcial de las aportaciones de muchos sistemas del cerebro y las conexiones internas de la CPF, le permiten desempeñar un papel central en la síntesis de la información necesaria para el comportamiento complejo. La mayoría de las conexiones son recíprocas; las excepciones se indican mediante flechas (Miller & Cohen, 2001).

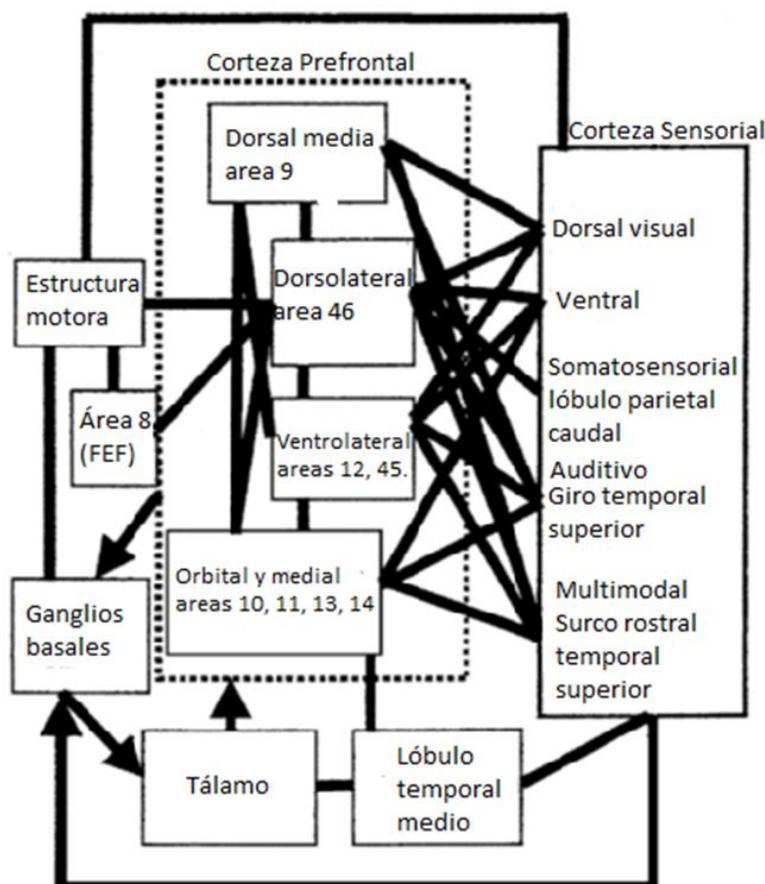


Figura 4. Algunas conexiones intrínsecas y extrínsecas de la CPF. Modificada de Miller y Cohen (2001).

5.1.3 Sistemas de neurotransmisión de la CPF

La CPF tiene dos tipos de neuronas principales, las neuronas piramidales y la interneuronas. Las neuronas piramidales se caracterizan por formar sinapsis asimétricas excitatorias (glutamatérgicas); alrededor del 80% de la población neuronal cortical son neuronas de proyección. Las interneuronas GABAérgicas representan alrededor del 15% de la población neuronal cortical y se caracterizan por formar sinapsis simétricas (DeFelipe, 2011).

La CPF tiene conexiones recíprocas y topográficas con los núcleos principales de los sistemas de neurotransmisión colinérgico y monoaminérgico como son: neuronas noradrenérgicas del pontino central, neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral, neuronas serotoninérgicas del núcleo de rafé y colinérgicas del cerebro medio basal, los cuales actúan a través de un sistema neuromodulador cortical de transmisión sináptica inhibitoria y excitatoria (Dalley et al., 2004).

Las vías serotoninérgicas se originan en el rafé dorsal (DR) y medial (MR) y están críticamente involucradas en la función cortical. La 5-HT actúa en receptores pre y posinápticos y está relacionada con las emociones, la memoria, el control de impulsos, humor y la función motora, ya que modula la actividad de diferentes tipos neuronales como piramidales y GABAérgicas y la liberación de otros neurotransmisores, tales como el glutamato, GABA, acetilcolina y DA (Celada, Puig & Artigas, 2013).

La DA juega un papel fundamental en la regulación de la función prefrontal a través de la activación de sus receptores. El sistema ascendente dopaminérgico inerva específicamente las áreas frontales y a la CPF. Las vías ascendentes dopaminérgicas se dividen en dos sistemas: el sistema nigroestriatal, originado en la SN, que inerva predominantemente al núcleo estriado y está asociado con el control del movimiento voluntario, y el sistema mesocorticolímbico que procede del área tegmental ventral (ATV) y proyecta a la CPF, hipocampo, amígdala y núcleo accumbens (Arnsten, 2011).

El sistema noradrenérgico constituye un componente esencial de la inervación del tronco cerebral que asciende directamente a la corteza cerebral sin ser primero transmitida a través del tálamo. La mayoría de las proyecciones entran en la corteza a través del polo frontal y viajan longitudinalmente en la capa VI a zonas caudales de la corteza, a la vez que hay arborizaciones que ascienden a las capas más superficiales. De hecho, en la

corteza de la rata hay patrones comunes de arborización en la capa I que contiene un plexo denso de fibras, y en las capas II y III que son menos densas de axones, están orientados radialmente. Las capas IV y V tienen fibras cortas retorcidas moderadamente densas, y la capa VI tiene axones largos que llevan NA en una dirección rostro-caudal (Miner & Sesack, 2007).

La CPF media, recibe y envía información al LC. La corteza cingulada anterior presenta poca inervación noradrenérgica, mientras que la corteza granular retrosplenial (por ejemplo la corteza cingulata posterior) recibe una densa inervación (Heidbreder & Groenewegen, 2003). Las vías noradrenérgicas originadas en el LC inervan amplias áreas del cerebro-medio límbico incluyendo al hipotálamo (Aston-Jones & Cohen, 2005). Las neuronas dopaminérgicas y noradrenérgicas que proyectan a la CPF, están implicadas en varias conductas complejas tales como procesos cognoscitivos, emoción, respuestas al estrés, ansiedad y miedo. Estas neuronas convergen en la CPF medial e interactúan en la liberación de varias catecolaminas (Kawahara, Kawahara & Westernik, 2001).

5.2. Ejemplos de la participación de la CPF en diversas funciones

La CPF se ha implicado en funciones cognitivas y ejecutivas que incluyen entre otros, la memoria de trabajo, la toma de decisiones, el control de la respuesta inhibitoria, y la integración temporal de la conducta voluntaria.

Basados en estudios en roedores, Dalley et al. (2004) describen que la CPF dorsomedial participa en la memoria que involucra respuestas motoras, incluyendo la selección de la respuesta y el procesamiento de la información temporal, mientras que las regiones de la CPF medial ventral, están implicadas en la función relacionada con la “supervisión” de la atención, incluyendo atención a las características del estímulo y contingencias de tareas (o reglas de acción y de resultado), la atención puesta al cambio y la flexibilidad del comportamiento. La corteza orbitofrontal participa en discriminaciones de orden inferior, incluyendo la inversión de asociaciones estímulo-recompensa (aprendizaje de reversión), y la elección que implica la respuesta demorada.

En pruebas de exploración espontánea en un laberinto radial se muestra que la CPF está involucrada en la memoria espacial de reconocimiento de orden temporal, pero no en la memoria de reconocimiento espacial (Hannesson, Vacca, Howland & Phillips, 2004).

En monos, las lesiones bilaterales de las áreas corticales frontales causan déficit en diferentes tareas de memoria. El aprendizaje condicionado, la memoria de reconocimiento de objetos, el aprendizaje de inversión, el aprendizaje de discriminación visual, la memoria de múltiples localizaciones espaciales y la tarea de respuesta tardía han sido reportados como deteriorados por lesiones bilaterales en áreas de la CPF. Monos con lesiones unilaterales cruzadas en CPF y temporal y con lesiones bilaterales presentaron severo deterioro en el aprendizaje asociativo de lugar de objetos (Browing, Easton, Buckley & Gaffan, 2005).

En una prueba en un laberinto radial, con cambios de lugar de estímulos olfatorios y visuales, la inactivación con lidocaína del área insular agranular de la CPF o del área prelímbica de la CPF mostró que la adquisición guiada por el olor dependió del área insular agranular, mientras que la adquisición de la prueba visual dependió del área prelímbica. Esta disociación sugiere que las funciones de la memoria de trabajo están diferenciadas en las regiones de la CPF (Di Pietro, Black, Green-Jordan, Eichenbaum & Kantak, 2004).

La CPF y otras estructuras cerebrales median la memoria de trabajo. En una prueba de discriminación de contexto basado en el miedo, las lesiones en el núcleo talámico mediodorsal y la CPF produjeron un deterioro significativo de las respuestas (Antoniadis & McDonald, 2006).

En la CPF, el estrés puede deteriorar las funciones de la memoria de trabajo, en donde el estrés agudo por presión de la cola, incrementa la liberación de la DA y NA (Finlay, Zigmond & Abercrombie, 1995).

En otro estudio se evaluaron los efectos de la lesión en la CPF, en los procesos de memoria de discriminación en serie y espaciales. Los resultados mostraron que los controles (no estresados), así como los ratones lesionados en la CPF (estresados o no) se acordaron de la primera discriminación (D1) pero no de la segunda (D2), además el estrés aumentó significativamente la concentración de corticosterona en ambos grupos sometidos a estrés; los autores concluyen que el recuerdo de D2 requiere de la integridad de la CPF (Chauveau et al., 2009).

Los glucocorticoides son esenciales para el mantenimiento de muchas funciones en el cerebro y sus receptores están ampliamente distribuidos, incluyendo a la CPF. En las

ratas el estrés crónico produce la liberación de glucocorticoides e induce a un deterioro en la memoria de trabajo y a un decremento de la transmisión dopaminérgica en la CPF. La supresión de glucocorticoides endógenos por adrenalectomía en ratas deteriora la memoria de trabajo y disminuye la liberación de DA, lo que se subsana con la inyección de corticosterona que reprodujo los niveles fisiológicos. Estos resultados indican que los glucocorticoides son esenciales para el mantenimiento de la función cognoscitiva de la CPF (Mizoguchi, Ishige, Takeda Aburada & Tabira, 2004).

La CPF presenta modificaciones estructurales y funcionales en respuesta a cambios en el medio ambiente, la concentración hormonal, y la edad. El estrés afecta a la estructura y función de la CPF, aunque dichos efectos no son necesariamente permanentes (McEwen & Morrison, 2013).

6. ESTRIADO

Los ganglios basales son un grupo de núcleos subcorticales interconectados que se localizan en el telencéfalo, diencéfalo y mesencéfalo. Incluyen a la SN, el área tegmental ventral, el núcleo subtalámico, el cuerpo estriado, el núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio (Heimer, Zahm & Alheid, 1995). Los ganglios basales están involucrados en los movimientos voluntarios, la atención, el aprendizaje y la memoria entre otros y su estructura y organización funcional son complejas. El cuerpo estriado es el núcleo cuyo sustrato neural es clave para el aprendizaje y la memoria de procedimiento (Kreitzer, 2009). El núcleo caudado y el putamen conforman el neostriado o estriado dorsal (ED). El estriado ventral comprende el núcleo accumbens y porciones del tubérculo olfatorio y las regiones inferiores del núcleo caudado y el putamen. El caudado se extiende a todos los lóbulos del cerebro, comenzando por la parte anterior de los lóbulos frontales, pasando después hacia atrás por los lóbulos parietal y occipital, y curvándose de nuevo hacia delante, hacia los lóbulos temporales en forma de C. El núcleo caudado recibe en gran parte de sus entradas proyecciones desde las áreas de asociación de la corteza cerebral, áreas que integran distintos tipos de información sensorial y motora en patrones de pensamiento utilizables. Una vez que las señales pasan de la corteza cerebral al núcleo caudado, se transmiten al globo pálido interno, después a los núcleos de relevo del tálamo ventroanterior y ventrolateral y finalmente de regreso a las áreas motoras prefrontales, premotora y suplementaria de la corteza cerebral, pero casi ninguna de las señales de retorno pasa directamente a la corteza motora primaria. Cada área de la corteza frontal proyecta a una región determinada del estriado, conservando una distribución topográfica (Groenewegen & Uylings, 2000).

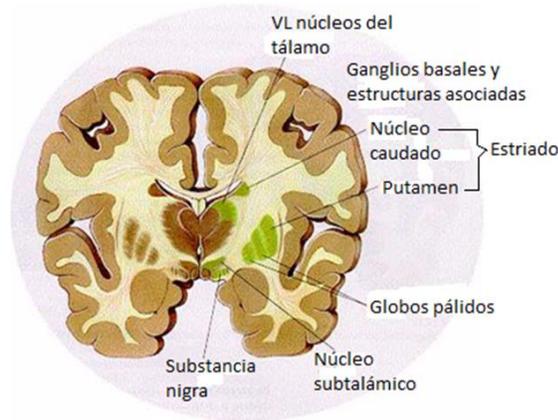


Figura 5. Representación de los ganglios basales en el cerebro humano (Modificado de Netter & Brass, 1994).

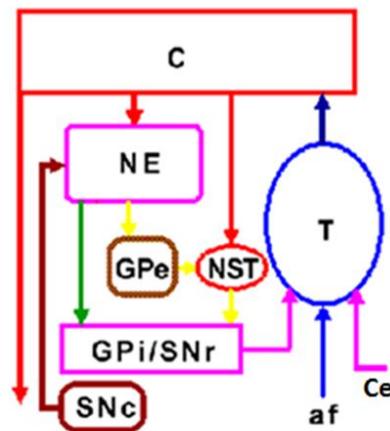


Figura 6. Componentes de los Ganglios Basales. C: corteza cerebral, NE: neostriado (núcleos caudado y putamen), GPi: globo pálido interno, SNr: sustancia nigra reticulada, GPe: globo pálido externo, SNc: sustancia nigra compacta, origen de la aferencia dopaminérgica al NE (en café), NST: núcleo subtalámico. Ce: cerebelo, af: aferentes. (Modificado de Bargas & Galárraga, 2000).

6.1. Neuronas del estriado

La mayor parte de las neuronas del neostriado son neuronas espinosas (presentan numerosas espinas dendríticas) medianas de proyección (90%), que sintetizan y liberan GABA. Las interneuronas colinérgicas del estriado constituyen menos del 2% (Bargas, Galárraga & Aceves, 1991; Bolam & Izzo, 1987).

Además de los neurotransmisores descritos, en el estriado hay neuronas glutamatérgicas, o que utilizan neuropéptidos (opioides, colecistoquinina, sustancia P, somatostatina o neurotensina) como neurotransmisor (Bolam & Izzo, 1987; Packard & Knowlton, 2002).

6.2. Conexiones del estriado

El neostriado es un mosaico complejo con diferentes tipos de neuronas y microrregiones neuroquímicamente especializadas. Esta organización de mosaico revela una multiplicidad de funciones: el primer nivel está representado por la segregación de dos sistemas de salidas del estriado al globo pálido y la SN; el segundo nivel está determinado por las salidas corticales a una porción del estriado, el cual de regreso proyecta neuronas dopaminérgicas, SP-érgicas y GABA-érgicas a la SN; el tercero está asociado con las conexiones topográficas de la corteza al estriado. Este tipo de organización explica las diferentes funciones que tiene el neostriado dependiendo del área a donde llegue la información tanto de estructuras corticales como subcorticales (Suvorov & Shuvaev, 2004).

Vías aferentes del estriado. El estriado recibe proyecciones de la corteza cerebral, el tálamo, y de estructuras límbicas como la amígdala e hipocampo que utilizan neurotransmisores excitatorios predominantemente glutamatérgicos y colinérgicos. También recibe proyecciones de vías dopaminérgicas originadas en la SN y en el área tegmental ventral; vías serotoninérgicas de los núcleos del rafe y vías noradrenérgicas del LC (Gerfen, 1989).

Vías eferentes. Las principales conexiones eferentes estriadas se proyectan hacia la SN, el diencefalo y la corteza cerebral. Tanto el núcleo caudado como el putamen proyectan hacia el globo pálido en forma organizada y el núcleo caudado se proyecta también directamente hacia el putamen y la SN. El globo pálido, a su vez envía fibras al tálamo, subtálamo, hipótlamo y la SN (Netter & Brass, 1994).

6.2.1. Sistema cortico-estriatal

Existe un arreglo topográfico de las proyecciones desde la CPF a diferentes partes de los ganglios basales, en particular al estriado. Tales proyecciones cortico-estriatales van desde el área fr2 (medial agranular) al caudado-putamen. Las proyecciones desde el área cingular anterior terminan medialmente y se extienden ventralmente hasta el núcleo accumbens. La parte dorsal del área prelímbica proyecta al caudado-putamen, bordeando la pared del ventrículo lateral, el núcleo núcleo accumbens y en menor grado el polo rostral del núcleo accumbens. La parte ventral de la corteza prelímbica envía fibras al extremo ventromedial del caudado-putamen. Estas observaciones indican que únicamente el área ventral prelímbica, infralímbica y orbital medial de la corteza, mandan proyecciones al núcleo accumbens, mientras que la región prefrontal dorsal manda proyecciones al corazón de éste núcleo y al caudado putamen dorsal (Heidbreder & Groenewegen, 2003; Yin, Knowlton & Balleine, 2006).

6.3. Funciones de los núcleos basales

Los ganglios basales desempeñan un papel fundamental en la planificación, iniciación y finalización de los movimientos, sobre todo en aquellos en que existe una dimensión cognitiva compleja. También influyen en el procesamiento de los estímulos del movimiento y en el inicio de éste. Intervienen en el control del movimiento ajustando la información aferente del programa motor para la realización adecuada de los movimientos e influyen en la gradación de la velocidad y amplitud del movimiento (Schultz, Tremblay & Hollerman, 2003).

Para comprender las alteraciones motoras y otros trastornos neurológicos que afectan la esfera cognoscitiva y emocional, es muy importante tener en cuenta la existencia de numerosos subsistemas en el circuito de control cortical, en particular el circuito límbico.

En el circuito cortico-estriatal se describen dos vías, una directa y otra indirecta, ambas se originan en las neuronas espinosas estriatales. En la vía directa entre las aferencias corticoestriadas y el tálamo, se interponen dos neuronas espinosas encadenadas,

una situada en el cuerpo estriado y la otra en el globo pálido medial. Ambas son GABAérgicas, es decir, inhibitoras. El resultado final de la activación de la vía directa es una desinhibición (estimulación) de las neuronas talámicas que envían impulsos a la corteza y facilitan los movimientos que se requieren. El resultado final de la activación de la vía directa es una retroalimentación cortical positiva.

En la vía indirecta se encadenan dos neuronas espinosas GABAérgicas situadas en el cuerpo estriado y en el globo pálido lateral, una neurona glutamatérgica (excitadora) ubicada en el núcleo subtalámico y una neurona GABAérgica situada en el globo pálido medial o en la porción reticular de la SN. Cuando se activan las neuronas del cuerpo estriado y al estar articuladas dos neuronas inhibitoras se produce una desinhibición de la tercera neurona que es excitadora, por lo que se estimula la neurona situada en el globo pálido medial (o en la porción reticular de la SN), que es inhibitora. El resultado final de la desactivación de la vía indirecta es una inhibición de las neuronas talámicas con proyección cortical y, por consiguiente, la inhibición del movimiento planificado. La vía indirecta es un circuito de retroalimentación negativa de la corteza cerebral. El comportamiento motor normal depende de un equilibrio entre los efectos sobre la corteza cerebral de las vías directa e indirecta (Ojeda & Icardo, 2004).

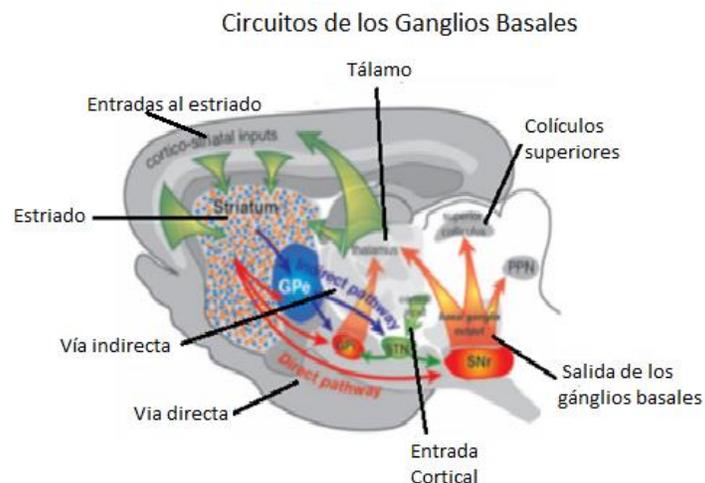


Figura 7. Diagrama de los circuitos de los ganglios basales: Vía directa e indirecta. Segmento interno del globo pálido (GPI); sustancia negra (SNr); núcleo subtalámico

(STN); segmento externo del globo pálido (GPE); núcleo pedúnculo pontino (PPN) (Modificado de Gerfen & Surmeier, 2011).

El estriado participa en diferentes formas de aprendizaje y memoria, como el aprendizaje de procedimiento dentro del dominio motor. El aprendizaje de procedimiento incluye el rendimiento en tareas cognoscitivas y las características emocionales/motivacionales en la memoria. Mientras que el ED está involucrado en el aprendizaje y la memoria procedimental que implica la formación de hábitos de estímulo-respuesta (Berke, 2009; Packard, 2009a). Las diferencias se basan en los cambios de actividad en tareas específicas cuando éstas se están aprendiendo. Las neuronas estriatales muestran cambios cuando los animales responden a estímulos tales como los que predicen recompensa o inducen a la preparación de movimientos. Los cambios se encuentran asociados con distintas áreas de la corteza frontal (Schultz et al., 2003).

Recuperar la memoria basada en experiencias del pasado, implica diversos procesos complejos. En ratas con lesión de la corteza infralímbica (pl-il), la corteza cingulada anterior dorsal (cad), el ED lateral (EDl) o el estriado dorsal medial (EDm), un día después de la lesión fueron sometidas a una tarea de evitación (luz brillante como estímulo discriminativo), en dos condiciones: con el estímulo discriminativo presente o en un ambiente nuevo. Ninguna de las lesiones afectó la adquisición. Las ratas control mantuvieron una mejor retención cuando la luz brillante estuvo presente, las ratas con lesión en el EDm no modificaron la respuesta, pero la respuesta facilitatoria del estímulo discriminativo fue bloqueada en los animales que fueron lesionados en la corteza prelímbica-infralímbica, la corteza cingulada y en el EDl. A partir de esos resultados los autores proponen que las cortezas prelímbica-infralímbica y cingulada y el estriado dorso lateral, participan en los procesos que promueven la memoria de asociación al estímulo (Botreau, El Massioui, Chéruef & Gisquet-Verrier, 2004).

En un estudio en monos se midió la actividad neural de la CPF dorsolateral y del caudado putamen por imagen de resonancia magnética *in situ*. Los monos aprendieron a asociar dos señales visuales, frente a dos señales nuevas cada día. Los cambios inducidos en la actividad fueron más rápidos en el estriado que en la CPF. La actividad de la CPF fue más acorde con la lentitud en el mejoramiento del aprendizaje. A partir de los resultados los autores proponen que las asociaciones se identificaron primero en los ganglios basales,

y en los que los mecanismos del aprendizaje lento se encuentran identificados en la CPF (Pasupathy & Millar, 2005).

6.4. Participación de regiones estriatales en los procesos de memoria

En aquellas tareas que requieren una asociación entre estímulo y respuesta, el ED participa en el procesamiento de la memoria implícita (Packard & McGaugh, 1996). Los trabajos de disociación en tareas relacionadas con hipocampo y con el ED confirman la participación del ED con la memoria implícita. En ratas con daño en el ED sometidas a un laberinto acuático, la habilidad para aprender la localización de una plataforma visible o no visible en el mismo lugar no fue modificada por la lesión en el ED, pero cuando se removía la plataforma visible, ellas visitaban el lugar previo. Las ratas con lesión en el fornix aprendieron la localización de la plataforma cuando ésta era visible, pero no lo hicieron cuando la plataforma no era visible. Cuando se removió la plataforma visible, las ratas nadaron hacia el lugar donde estaba. A partir de estos resultados, los autores postulan que el sistema neural en el estriado controla la conducta de información espacial y que en el sistema nervioso de los mamíferos, los distintos sustratos adquieren diferente tipo de información simultáneamente y en paralelo (McDonald & White, 1994).

Diversos estudios muestran la participación del ED en el aprendizaje y la memoria. Sin embargo, existen evidencias de que el estriado ventral también está involucrado en este proceso. Al núcleo accumbens se le asocia con la memoria emocional mediada por estructuras límbicas que proyectan al estriado ventral (por ejemplo hipocampo y amígdala), y existen evidencias de que lesiones en el ED no afectan el proceso de éste tipo de memorias (Cador et al., 1989 citado por Packard & Knowlton, 2002; Packard & Wingard, 2004). La amígdala envía proyecciones directa e indirectamente a otras regiones del cerebro incluyendo el núcleo caudado y al hipocampo, involucradas en la mediación de diferentes formas de aprendizaje (McGaugh, McIntyre & Power, 2002; Packard, 2009b; Pakard & WIngard, 2004).

Las lesiones en el estriado deterioran la ejecución en una tarea de evitación inhibitoria (Barker, Glick, Green & Khandelwal, 1982). Lesiones en la región anterodorsal del estriado y en la región posterior produjeron deterioro en una tarea de evitación

inhibitoria, lo que no se observó cuando la lesión fue en la región ventral (Prado-Alcalá, Maldonado & Vázquez-Nin, 1979). Las lesiones del núcleo caudado-putamen dorsolateral antes del entrenamiento de ratas Long-Evans, no tuvieron efecto en la tarea de laberinto de Morris, pero las lesiones de la región dorsomedial incrementaron las latencias para que los sujetos encontraran la plataforma en el laberinto (Devan, McDonald & White, 1999).

En ratones con lesión en la amígdala o en el hipocampo, la estimulación del sistema GABAérgico por la inyección de muscimol, disminuyó la retención, lo que no ocurrió en los animales con lesión en el núcleo caudado. El bloqueo del sistema GABAérgico con bicuculina, produjo facilitación en todos los casos. Los resultados obtenidos fueron dependientes de la dosis (Ammassari-Teule, Pavone, Castellano & McGaugh, 1991). La estimulación de los receptores GABA_B en el ED por la administración de baclofen post-entrenamiento, deterioró la tarea de evitación inhibitoria (González-López, 2005).

La administración de α -metil-4-carboxyfenilglicina (antagonista glutamatérgico) o del ácido 1-aminociclopentano-1, 3-carboxílico (agonista glutamatérgico) en el ED de ratas sometidas a una tarea de evitación inhibitoria, deterioran la retención de la evitación inhibitoria, mientras que no afectan la retención en el laberinto de Morris (Packard, Vecchioli, Schroeder & Gasbarri, 2001)

La inyección de sulpiride, un bloqueador de los receptores dopaminérgicos D2, en el caudado-putamen posteroventral de ratas sometidas al laberinto de Morris resultó en un menor tiempo de nado cerca de la localización de la plataforma de entrenamiento y más tiempo en la periferia del laberinto. La latencia para localizar la plataforma no fue afectada significativamente (Setlow & McGaugh, 1999)

El estriado es una de las estructuras en donde se procesa la memoria y tiene una íntima relación con la CPF, pero pocos son los estudios en animales en donde se relacionen funcionalmente las dos estructuras durante el proceso del aprendizaje y la memoria.

7. NORADRENALINA

Varios estímulos estresantes activan las neuronas noradrenérgicas del LC lo que resulta en el aumento del metabolismo y recambio de la NA en diferentes áreas del cerebro (Kawahara, et al., 2001).

El LC es un grupo compacto de neuronas situados en el cerebro medio dorsal y en él se concentra la mayoría de las neuronas noradrenérgicas, por lo que es considerado uno de los principales sistemas en la regulación de reacciones de conductas complejas ante el estrés y la ansiedad (Valentino & Van Bockstaele, 2008).

Las neuronas noradrenérgicas del LC inervan al hipocampo y la neocorteza, regiones asociadas en los procesos de aprendizaje. Evidencias anatómicas, electrofisiológicas y conductuales nos sugieren que el LC, y posiblemente otras vías noradrenérgicas, participan en la regulación de la adquisición de la información sensorial, a la cual modulan por medio de la memoria, atención y conductas motoras. La desregulación del sistema noradrenérgico-LC resultaría en un deterioro de los procesos cognoscitivos y afectivos asociados con desórdenes como el déficit de atención, la hiperactividad, narcolepsia y los desórdenes derivados del estrés (Berridge & Waterhouse, 2003) como la depresión (Ressler & Nemeroff, 1999).

7.1. Vías noradrenérgicas del LC

Los axones de neuronas noradrenérgicas del LC y de núcleos noradrenérgicos del bulbo raquídeo ascienden e inervan al cerebro. El sistema del LC inerva a todo el cerebro excepto a los ganglios basales (estriado y globo pálido) los cuales están prácticamente desprovistos de NA. Únicamente el núcleo accumbens recibe pequeñas inervaciones noradrenérgicas del LC (Marien, Colpaert & Rosenqui, 2004).

Aferencias. El LC recibe aferencias principalmente del núcleo paragigantocelular y del hipogloso ambos situados en la médula rostral, otras fuentes de entrada son el núcleo paraventricular del hipotálamo, el área preóptica medial, la sustancia gris periacueductal y la zona intermedia de la médula espinal, del núcleo del rafé dorsal, amígdala, y la corteza frontal, insular y perirhinal (Singewald & Philippu, 1998). Éstas vías incluyen neurotransmisores adrenérgicos, glutamatérgicos, serotoninérgicos y gabaérgicos,

CRHérgicos que liberan encefalinas o sustancias P (Bremner, Krystal, Southwick & Charney, 1996).

Eferencias. El LC proyecta a la CPF, el tálamo, estriado ventral, la amígdala, el área preóptica, el hipotálamo, al cerebelo, tallo y médula espinal (Paxinos, 2004).

El patrón de inervación del LC a la corteza muestra una especificidad regional con una distinta distribución laminar en diferentes capas de la corteza. En las capas I, IV y V. Pocas neuronas noradrenérgicas se encuentran en la materia blanca (Glavin, 1985). A partir de estas observaciones Valentino y Aston-Jones en 1995 (citado por Gibbs & Summers, 2002) propusieron que cambios en las descargas del LC pueden impactar funcionalmente y simultáneamente a diferentes blancos y éste podría ser un camino por el cual el LC podría coordinar la actividad de múltiples sistemas.

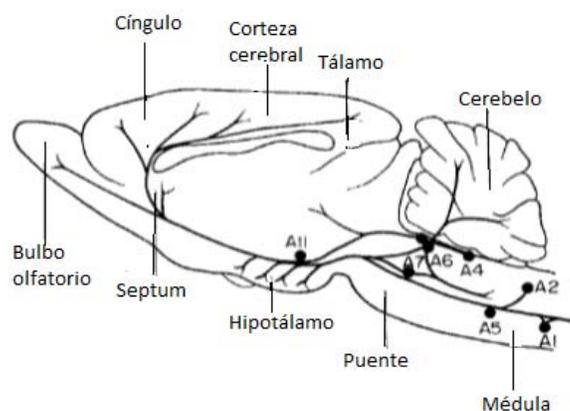


Figura 8. Principales vías noradrenérgicas en cerebro de ratona (Modificada de Laverty, 1975).

7.2. Síntesis

La síntesis de NA y DA son dependientes de la disponibilidad de la tirosina. La tirosina es competitivamente transportada a través de la barrera hematoencefálica desde el líquido cerebroespinal por un acarreador. En las neuronas noradrenérgicas la tirosina es transportada a la terminal nerviosa, convertida en L-hidroxifenil-alanina (L-DOPA), por la enzima tirosina hidroxilasa. La L-DOPA es descarboxilada a DA y la DA es convertida a NA por acción de la enzima dopamina- β -hidroxilasa (DBH) (Glavin, 1985; von Bohlen & Dermietzel, 2006).

La NA es empaquetada en vesículas que son transportadas a las terminaciones nerviosas donde se liberan a los espacios sinápticos por un proceso dependiente de Ca^{++} . La NA liberada es recapturada en las terminales presinápticas por el transportador de NA (NAT) o en terminales DA por el transportador de DA (DAT). La NA recapturada es transportada a vesículas o metabolizada intraneuronalmente por la monoamina oxidasa (MAO), produciendo 3,4-hidroxifenil-glicol (DHPG) o ácido 3,4-hidroximandélico (DHMA), los cuales son convertidos en el 3 metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) o en ácido vanillilmandelico (VMA) (Figuras 9 y 10).

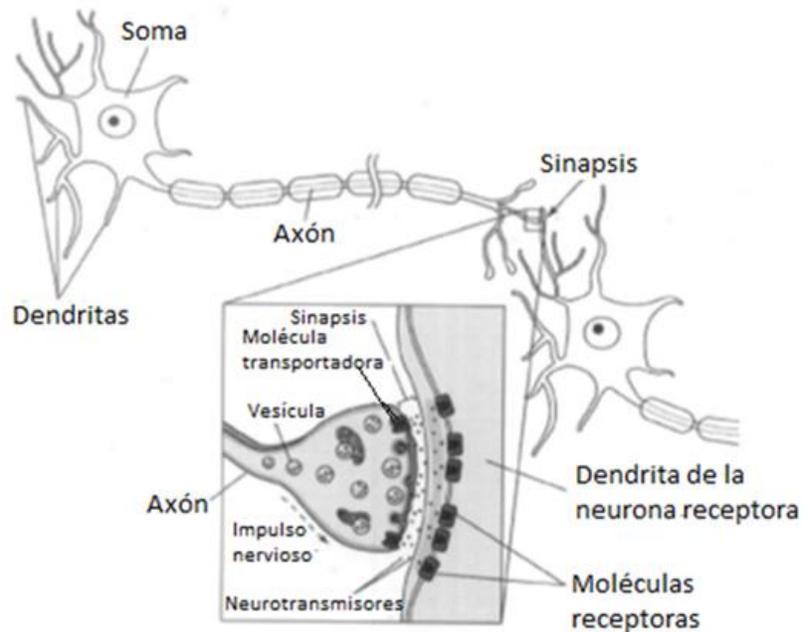


Figura 9. Estructura y función de las neuronas enfatizando la transmisión y liberación de los neurotransmisores (Modificada de Osuch et al., 2004).

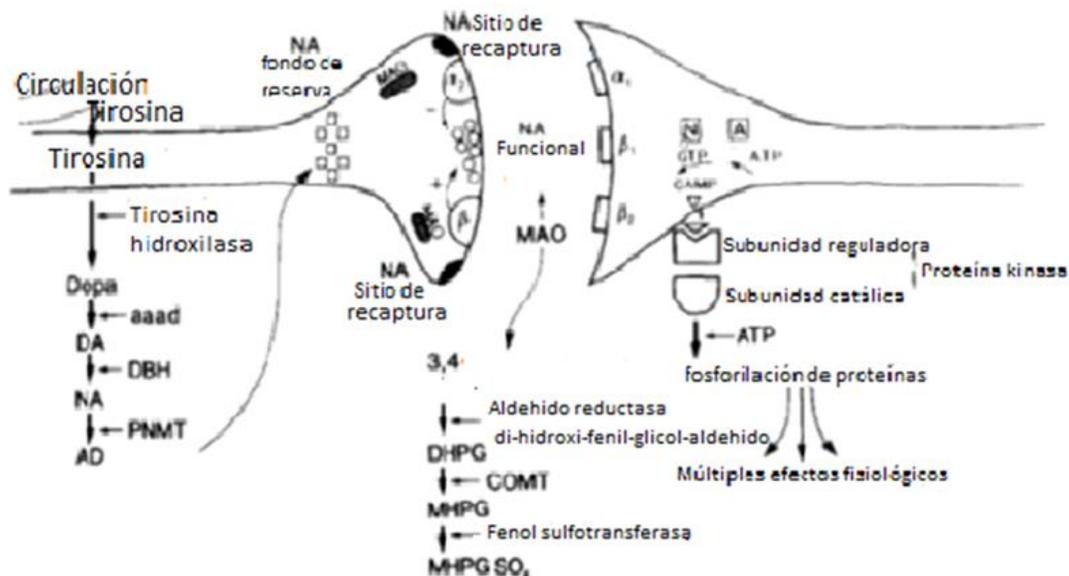


Figura 10. Esquema de la sinapsis noradrenérgica donde se muestra la síntesis, metabolismo, receptores y “segundos” mensajeros Noradrenalina (NA); dopamina (DA); adrenalina (AD); dihidroxi-fenil-alanina (DOPA); aminoácido aromático descarboxilasa (aaD), dopamina beta hidroxilasa (DBH); fenil-etanol-amina N-metil transferasa (PNMT); monoamina oxidasa (MAO); 3,4-dihidroxi-fenil-etilenglicol (DHPG); 3-metoxi 4 hidroxi-fenil-etilenglicol (MHPG); enlace nucleótido guanil (N); adenilato ciclasa (A); 3’5’adenosin monofosfato ciclasa (cAMP); adenosin-trifosfato (ATP) y guanosina trifosfato (GTP) (Modificado de Glavin, 1985).

Almacenamiento:

Una gran porción de la NA sintetizada es almacenada en partículas o granos que contienen adenosin-trifosfato (ATP) y DBH. El ATP sirve para acoplar la NA o la DA dentro de éstos granos, en los cuales la DBH transforma la DA en NA. Se ha propuesto que estas vesículas de almacenaje contienen aproximadamente el 80% del total de la NA y DA. La vida media de ambos NA y DA es aproximadamente de 120 min.

Liberación, degradación y recaptura:

La liberación de la NA depende de la entrada de Ca^{++} , lo cual provoca que las vesículas la pongan en contacto con la membrana celular y se produzca la exocitosis. La NA en el espacio sináptico interactúa con los receptores β de la membrana postsináptica y con los receptores α de la membrana presináptica. El 80% de la NA liberada es recapturada y una parte es reutilizada en vesículas, y otra es metabolizada por la MAO que está presente en la mitocondria (Glavin, 1985).

Se han propuesto varios mecanismos para explicar la liberación de las catecolaminas desde las terminales nerviosas en el cerebro. Uno de ellos postula la acción de sustancias endógenas que actúan en las terminaciones nerviosas y estimulan la liberación de las aminas almacenadas. Las catecolaminas, la acetilcolina, adenosina, las prostaglandinas, los péptidos como angiotensina II, y vasopresina, han sido implicados en la modulación de la liberación de las catecolaminas vía acción directa en las terminaciones nerviosas (Glavin, 1985).

La existencia de receptores presinápticos es otro mecanismo para la liberación continua, los adrenoreceptores presinápticos α_2 inhiben y regulan la liberación de NA a través de un mecanismo de retroalimentación inhibitoria mediado por el propio neurotransmisor. Los agonistas a adrenoreceptores α_2 (ej. clonidina), inhiben la estimulación de la liberación de NA, mientras que los antagonistas (ej. yohimbina) aumentan la liberación de NA durante la estimulación nerviosa (Fernández-Pastor, 2002).

Otro mecanismo propuesto es la existencia de sistemas de recaptura específicos, como cuando las monoaminas son inactivadas después de su liberación desde la sinapsis por un sistema específico de recaptura en las terminaciones nerviosas, las cuales incorporan al neurotransmisor desde el medio externo al interior de la terminación nerviosa. Esta recaptura es regulada por la inactivación del sistema de recaptura cuando las concentraciones de NA son bajas e incrementando la recaptura cuando las concentraciones son altas. La actividad de transportadores depende del gradiente de Na^+ de la transmembrana (Glavin, 1985; von Bohlen & Dermietzel, 2006).

7.3. Receptores

Los receptores adrenérgicos se clasifican en α y β , que a su vez se subdividen en α -1 y α -2, y en β . Los receptores α -1 y β se localizan en sitios post-sinápticos, mientras que los α -2 se localizan en los sitios pre y post-sinápticos. La distribución y el acoplamiento a segundos mensajeros varía dependiendo de la región del cerebro. Se han identificado subtipos de los receptores adrenérgicos: tres subtipos β (β 1-3), tres subtipos α -1 (α -1 a, α -1b y α -1d) y 4 subtipos α -2 (α -2 a – d). Los receptores β 2 actúan presinápticamente para facilitar la liberación de la NA (Bylund et al., 1992; Jones & Palacios, 1991). Los receptores α -2 y β -2 son autoreceptores y participan en la liberación de noradrenalina.

7.4. Noradrenalina y estrés

El sistema noradrenérgico cerebral participa en la respuesta de estrés. Un estímulo estresante activa al sistema noradrenérgico del LC aumentando el disparo de las neuronas noradrenérgicas. Los estímulos que activan al LC pueden ser dolorosos, estresantes o alarmantes. En animales de laboratorio se emplean como estresores el pinchamiento de la cola del animal, el choque en las patas, un ruido fuerte y la hipotensión. El estrés resulta en un incremento en la síntesis, liberación y recambio de la NA en la región terminal de las neuronas noradrenérgicas de la corteza cerebral, el hipocampo y la amígdala. La activación de las neuronas noradrenérgicas del LC depende del tipo del estímulo estresante que se imponga, de los otros sistemas que sean activados y de los que son inhibidos. Según Singewald y Philippu (1998) la desregulación del sistema noradrenérgico del LC está involucrada en algunos desórdenes mentales como el estrés postraumático, la depresión y el desorden por pánico.

7.5. Ejemplos de la modificación del sistema noradrenérgico en los procesos de memoria, ansiedad y estrés

Diversos estudios muestran la influencia de la NA en la memoria. La administración de propanolol, bloqueador de los receptores β -adrenérgicos, a ratas adultas inmediatamente después de haber ejecutado una prueba en el laberinto de agua, produjo amnesia retrógrada, lo que indica que se afectó el proceso de consolidación de la memoria (Cahill, Pham & Setlow, 2000).

La exposición a un ensayo de evitación inhibitoria produce liberación de NA en la amígdala (McIntyre, Hatfield & McGaugh, 2002). La administración intra-amígdala del DSP-4 (toxina noradrenérgica) a ratas sometidas a una prueba de evitación inhibitoria deterioró la memoria, mientras que la infusión intra-amígdala de NA, bloqueó este deterioro (Liang, 1998). Estudios farmacológicos muestran que la NA en la amígdala juega un papel importante en la consolidación de la memoria (McGaugh, 2004).

En ratas sometidas a estímulos aversivos o con experiencias de ansiedad, aumenta la liberación de corticosterona en plasma y de NA y de serotonina en la CPF, pero no en el estriado (Sahgal et al., 1990; Tomie et al., 2004).

La exposición a animales a estresores físicos, conductuales o psicológicos produce aumento de la liberación de NA, de la concentración de NA en el LC, hipotálamo, hipocampo y el núcleo basolateral de la amígdala. Esta respuesta puede ser modulada cuando el estímulo estresante es controlable o predecible (Rusnák, Kvetňanský, Jeloková & Palkovitsc, 2001). El estrés agudo por restricción altera de manera diferente al sistema noradrenérgico del hipotálamo, la amígdala, el hipocampo y los ganglios basales, lo cual depende del estresor utilizado (Glavin, 1983).

8. CORTICOSTERONA

La exposición a estímulos estresantes aumenta la secreción de glucocorticoides por la corteza adrenal, en respuesta al aumento de la concentración de la CRH y ACTH. El aumento en la concentración de glucocorticoides, a su vez, inhibe el aumento de CRH y ACTH (retroalimentación negativa). Los glucocorticoides modulan y regulan la plasticidad neuronal de muchas regiones del cerebro (McEwen, 1999 citado por Belanoff, Gross, Yagera & Schatzberga, 2001). Diversos estímulos estresantes estimulan la secreción de glucocorticoides, lo cual depende del sexo del animal (Bowman, Beck & Luine, 2003), del estímulo estresante y la intensidad y la duración de éste (Klenérova et al., 2003). Así, animales sometidos a inmovilización por diferentes tiempos presentan disminución de la concentración de corticosterona, que dependió del tiempo de inmovilización (Rage, Givalois, Marmigere, Tapia-Arancibia & Arancibia, 2002). En cambio, cuando los animales son expuestos a un choque, aumenta la concentración de corticosterona. En animales y en humanos, un estímulo doloroso, dañino o peligroso que se presente por un largo periodo puede resultar en el aumento en la concentración de glucocorticoides (De Boer, Koopmans, Slangen & Van de Gugten, 1990).

8.1. Efectos de la corticosterona en la memoria y en la ansiedad

Según algunos autores la administración de glucocorticoides mejora la memoria, mientras que otros describen que hay deterioro (Park, et al., 2006; Woodson, Macintosh, Fleshner & Diamond, 2003). El efecto de los glucocorticoides en la memoria depende de la fase de la memoria (McReynolds, Holloway-Erickson, Parmar, & McIntyre, 2014). Por ejemplo, la influencia del aumento de glucocorticoides plasmáticos en la consolidación de la memoria depende de la activación noradrenérgica del complejo basolateral de la amígdala y la interacción con otras regiones del cerebro. En cambio, la recuperación de la memoria se deteriora con altas concentraciones de glucocorticoides o por inyección de agonistas en el hipocampo (Roosendaal, 2002).

La administración de glucocorticoides mejora la consolidación de la memoria a largo plazo, pero deteriora el proceso de recuperación de la memoria de trabajo dependiendo de la dosis (Roosendaal, Okuda, Quervain & McGaugh, 2006; Sandi, 2003).

En ratas adrenalectomizadas y privadas de alimento sometidas a una tarea de memoria de trabajo en laberinto en T, mostraron deterioro en la memoria y se redujo la liberación de DA. La inyección de corticosterona evitó el deterioro, lo que indica que los glucocorticoides intervienen en la memoria (Mizoguchi, Ishige, Takeda, Aburada & Tabira, 2004).

La ansiedad por sí misma está acompañada por un aumento en la actividad del eje hipotálamo-corticotrópico y existe una interrelación entre la secreción de los glucocorticoides y los estados de ansiedad (Lupien & Lepage, 2001; Millan, 2003).

9. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

A partir de los resultados obtenidos en estudios en humanos se sugiere que la exposición diaria a estresores se correlaciona con diferentes problemas de salud como son el abuso compulsivo de drogas, la reincidencia del consumo de la droga en el periodo de abstinencia, la presencia de desórdenes mentales como los trastornos de ansiedad etc. Los mecanismos neurobiológicos y conductuales involucrados en el efecto del estrés y las drogas que son utilizadas para atenuarlos no son enteramente conocidos (Lu, Shepard, Hall, & Shaham, 2003).

Los estudios de los efectos del estrés sobre los modelos conductuales no son concluyentes. Según algunos estudios, el estrés mejora la memoria, mientras que otros indican deterioro de la misma. Los resultados de estudios neuroquímicos y hormonales vinculados al proceso de memoria y estrés son aún más inciertos, ya que los resultados dependen del tipo de prueba a la que se someta al animal, del tipo de estímulo y la intensidad de éste. El ED y la CPF son estructuras relacionadas con la memoria de trabajo y la memoria emocional. Son pocos los estudios en donde se evalúa la participación del ED, la CPF y los glucocorticoides en los procesos de memoria y ansiedad. Los resultados de esos estudios son inconsistentes, ya que los glucocorticoides pueden mejorar o deteriorar la memoria dependiendo de la dosis, el procedimiento a que se someta al sujeto, tipo de estrés e intensidad del mismo.

También existen pocos estudios sobre la modificación del sistema noradrenérgico en la CPF y el estriado dorsal relacionados con los efectos del estrés sobre la memoria y ansiedad. Por ello en el presente estudio se evaluaron los efectos del estrés agudo sobre la conducta y el sistema noradrenérgico en estas estructuras.

Existe poca información sobre el curso temporal de la NA ante el estrés. La mayoría de los estudios sobre los efectos del estrés sobre las catecolaminas se basan en los resultados de su liberación aguda en varias estructuras del cerebro durante el estrés y el curso temporal es de hasta 180 min. En cambio, en el presente estudio se analizaron los efectos de diferentes tipos de estrés sobre la actividad noradrenérgica hasta 24 h después del estrés.

Dado que el estrés por restricción desencadena la respuesta del eje HPA, y que las tareas ejecutadas que evalúan la memoria y la ansiedad, pueden hacer llegar la señal a diferentes poblaciones de neuronas de estructuras como el ED y la CPF y ejercer influencia en la respuesta conductual y neuroquímica, en este trabajo se pretende contestar las siguientes preguntas:

¿Cuál es el efecto del estrés agudo por restricción de movimiento sobre la memoria y la ansiedad?

En los mismos sujetos ¿Se afectará el sistema noradrenérgico de la corteza prefrontal y el estriado dorsal, estructuras cerebrales relacionadas con estos procesos?

¿El estrés agudo por restricción afectará la concentración de corticosterona en plasma en cada caso?

Los resultados de estos estudios aportan nuevos conocimientos sobre los efectos del estrés agudo sobre los sustratos neuroanatómicos de los que depende la ansiedad y el almacenamiento de la memoria.

10. OBJETIVO GENERAL

Estudiar los efectos del estrés agudo por restricción sobre la memoria y la ansiedad en procedimientos ejecutados inmediatamente, una o 24 horas después del estrés, y los cambios en el sistema noradrenérgico en la CPF, el ED y la concentración de corticosterona en plasma.

11. METODOLOGÍA

Sujetos: Se utilizaron 360 ratas macho Wistar en el rango de 250 – 270 g al inicio del experimento, las que se alojaron durante una semana para su habituación en jaulas de acrílico en grupos de cuatro ratas, con comida y agua *ad libitum*, con ciclo de luz-oscuridad natural. Los sujetos (Ss) fueron asignados aleatoriamente a los diversos procedimientos experimentales ($n = 8$).

Aparatos

Equipo de Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés High Resolution Liquid Chromatography).

Se utilizó para medir las cantidades de NA y MHPG en tejido cerebral. El equipo está ubicado en el laboratorio de Biología de la Reproducción de la FES-Zaragoza. Está constituido de una bomba isocrática digital (modelo L-250 Perkin-Elmer Co., Norwalk, CT, EUA), una válvula de inyección Rheodyne (modelo 7125, Perkin, Co., Norwalk, EUA) con una capacidad de 20 μ l y una columna de fase reversa C-18 (25 cm x 4.6 mm), con partícula de 10 μ m de diámetro, (Bioanalytical Systems, West Lafayette, EUA). La columna está acoplada a un detector electroquímico (modelo L4-C4, BAS West Lafayette, EUA) (conformado de un electrodo de trabajo de carbón vidriado y un electrodo de referencia de plata/cloruro (Ag/AgCl)). Los datos obtenidos fueron procesados por un integrador modelo 1020, Perkin Elmer.

Cámara de Evitación Inhibitoria (EI)

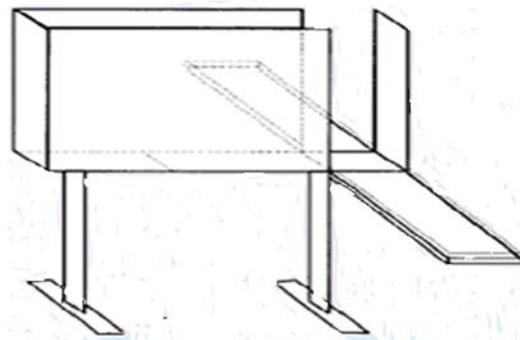
Para evaluar la memoria se utilizó una cámara de evitación Gemini (San Diego Instruments, California, USA). La cámara está compuesta por dos compartimentos separados por una compuerta, uno de seguridad (iluminado) y el otro de castigo (oscuro) provisto de una rejilla para administrar choques eléctricos. La cámara está conectada a una computadora con el programa provisto por el fabricante lo cual permite la presentación de estímulos y el registro de las respuestas en forma automática y medir las latencias de retención el día de la prueba.



Rata dentro del compartimiento de seguridad en la cámara de evitación inhibitoria

Laberinto elevado en T (LT)

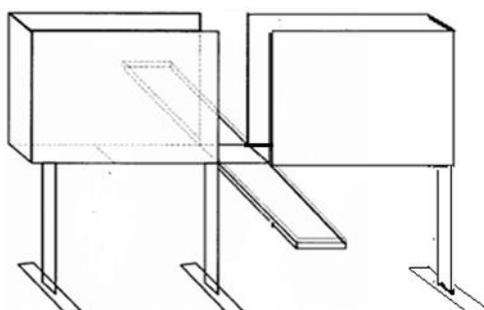
Se utilizó para evaluar la memoria (latencias de retención) y ansiedad (latencias de escape). El registro de las conductas (latencias de evitación y escape) se realizó por observación directa, los tiempos se midieron con ayuda de un cronómetro. El laberinto elevado está hecho con PVC blanco con dos brazos abiertos de (50 x10 cm) y un brazo cerrado opuesto de las mismas medidas, con paredes cerradas de 40 cm de alto excepto en la entrada. Los brazos abiertos cuentan con una orilla de 1 cm de alto del mismo material. Los brazos se extienden a partir de una plataforma central de 10 x 10 cm, el laberinto se encuentra elevado a 50 cm del piso.



Dibujo del laberinto elevado en T

Laberinto elevado en cruz (LEC)

Para evaluar la ansiedad, se utilizó un laberinto, hecho con PVC blanco con dos brazos abiertos opuestos a dos brazos cerrados todos de las mismas medidas (50 x 10 cm). Los brazos abiertos cuentan con una orilla de 1 cm del mismo material, los brazos se extienden a partir de una plataforma central de 10 x 10 cm, y se encuentra elevado a 50 cm del piso. Se utilizó para evaluar ansiedad (tiempo de espera en los brazos cerrados y abiertos). Se registró el número de traslados a los brazos abiertos y cerrados y número total de éstos. El registro se hizo con una cámara de circuito cerrado conectada a un programa de cómputo, para su análisis.



Dibujo del laberinto elevado en cruz

Restricción (R)

Se emplearon contenedores de acrílico (PLAS LAB. INC) que impiden el movimiento del cuerpo, pero no de la cabeza. Los sujetos fueron restringidos en un cuarto con luz natural.



Rata en el contenedor de restricción de movimiento

Procedimiento General (para todos los grupos)

Los sujetos fueron manipulados durante los ocho días de habituación con el fin de disminuir el estrés causado por la misma al momento de ser introducidos a los

contenedores de acrílico para la restricción. El tiempo de restricción empezó a contar desde el momento en que los contenedores quedaron completamente cerrados y sellados con cinta adhesiva.

Cuantificación de corticosterona en plasma

Inmediatamente después de la restricción de movimiento o de terminada la prueba conductual los animales fueron decapitados con una guillotina, se obtuvo una muestra de sangre del tronco (3 mL) que se le dejó coagular, se centrifugó a 3,000 rpm durante 30 minutos, el suero se mantuvo a -20°C hasta que se cuantificó la corticosterona por ELISA, con un Kit de Assay Designs. Catálogo No. 900-097 EV. Los resultados analíticos se expresan en ng/ml. El límite inferior de detección fue de 0,027 ng/ml y el porcentaje de los coeficientes de variación intra e inter-ensayo fueron 5.3 y 9.87 respectivamente.

Cuantificación de noradrenalina

Se extrajo el cerebro que fue congelado inmediatamente con nitrógeno líquido, e inmediatamente después y en condiciones de baja temperatura se hicieron cortes transversales para obtener muestras de: corteza prefrontal (derecha) y estriado (dorsal derecho). Las muestras fueron mantenidas a -80°C hasta su procesamiento por HPLC donde se midió la cantidad de NA y su metabolito ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG), siguiendo la metodología de Ayala, Monroy, Morales, Castro, & Domínguez (1998). La actividad noradrenérgica se calculó como el cociente de la concentración del metabolito entre la concentración del neurotransmisor $[\text{Metabolito}]/[\text{Neurotransmisor}]$ (Shannon, Gunnet, & Moore, 1986).

Procedimiento de HPLC

La fase móvil se preparó antes de cada corrida y consistió de un buffer de citratos 0.1 M pH=3 (citrato de sodio, Merk México) más 100 mg de ácido octanosulfónico (Merk-México). La solución se filtró a través de una membrana de celulosa y se degasificó con helio al vacío. Se adicionaron 20 ml de acetonitrilo y 15 ml de tetrahidrofurano, el volumen final fue de 500 ml. La fase fue bombeada al sistema de cromatografía a un flujo de 1.2 ml/min.

Preparación de estándares

El día de medición se prepararon los estándares de NA [3-hidroxi tiramina hidroclicorada] y MHPG (Sigma Chem., Co., St. Louis. Mo, EUA). La calibración se realizó

con el método estándar externo, se utilizó el área de los picos obtenidos en el cromatograma de tres estándares (1, 0.5 y 0.1 ng) y se ajustaron a una recta que incluyó el origen, por el método de regresión de mínimos cuadrados. El integrador 1020, calculó la concentración de la muestra problema, al comparar el área bajo la curva de ésta, con el área bajo la curva de la solución de referencia de NA y su metabolito. La concentración se expresa en ng/mg de tejido, el límite de detección de la NA fue de 0.01 ng.

Procedimiento de las pruebas conductuales

Cámara de Evitación Inhibitoria

Entrenamiento

Cada sujeto se introdujo en el compartimiento de seguridad iluminado, durante 10 s (habitación), luego se abrió la puerta entre los dos compartimentos y se registró el tiempo en que el sujeto tardó en entrar al compartimiento de castigo, el cual estaba oscuro (latencia de adquisición). Una vez adentro, se cerró la puerta y se aplicó un choque de 2.5 mA durante 5 s. luego se abrió la puerta y se permitió al S escapar al compartimiento de seguridad (latencia de escape), en donde permaneció durante 30 s y después se le devolvió a su jaula.

Prueba

Veinticuatro horas más tarde se realizó la sesión de retención la cual fue igual a la sesión de entrenamiento, excepto que no se le administró el choque. Se midió el tiempo en el que el S entró al compartimiento de castigo (latencia de retención), si el S no cruzaba en 600s, se daba por terminada la sesión. Latencias cortas señalaban amnesia y latencias largas recuerdo.

Laberinto elevado en T

Entrenamiento

En la primera sesión se realizaron 3 ensayos de evitación (EV) y uno de escape (ES). En cada ensayo de EV, el sujeto se introdujo en el brazo cerrado y se midió el tiempo que permaneció en el mismo hasta que salió del mismo y las 4 patas estuvieron fuera del brazo. El primer ensayo se consideró la línea base (LB) y los otros dos ensayos fueron de

evitación 1 y evitación 2 (EV1 y EV2). En el ensayo de escape ES se colocó al sujeto en el brazo abierto y se midió el tiempo que tardaba en abandonarlo y entrar al brazo cerrado ES1. Entre cada ensayo se le devolvía a su jaula durante 30 s.

Prueba

Veinticuatro horas después se seguía el mismo procedimiento colocando al S una sola vez en el brazo cerrado (EV3 o de retención) y una sola vez al brazo abierto (ES2). El criterio para dar por terminado el ensayo, fue que el sujeto no abandonara el brazo cerrado durante 300 s.

Laberinto elevado en cruz

Se realizó en una sola sesión de 5 minutos. Al S se le dejó explorar libremente en el laberinto durante 5 min, y se midieron diferentes parámetros, se registraron el número de traslados a los brazos abiertos y cerrados, el número total de traslados y el tiempo de permanencia en cada brazo (cerrado y abierto).

Diseño del estudio

Para el estudio se realizaron cuatro experimentos. Todos los experimentos se llevaron a cabo entre las 14 y 18 h.

11.1. Método General

Para elegir los horarios de trabajo y conociendo que las respuestas neuroendócrinas se alteran con el ritmo circadiano, dos grupos intactos se sacrificaron en diferente horario. El primero en un horario de 12 h y otro a las 17 h. Se analizaron los valores del sistema noradrenérgico de la CPF y del ED, así como de la concentración de corticosterona.

Para el experimento 1 se utilizaron tres grupos independientes para cada estresor (restricción, choque, LT y LEC) y al concluir el procedimiento correspondiente los grupos fueron sacrificados a tres periodos: inmediatamente (0 h), una (1 h) o 24 horas después (24 h). En el caso de las tareas, se consideró el procedimiento del primer día (entrenamiento en el caso de EI y LT) y la tarea en LEC. En la Figura 11 se muestra el procedimiento de los grupos del Experimento 1.

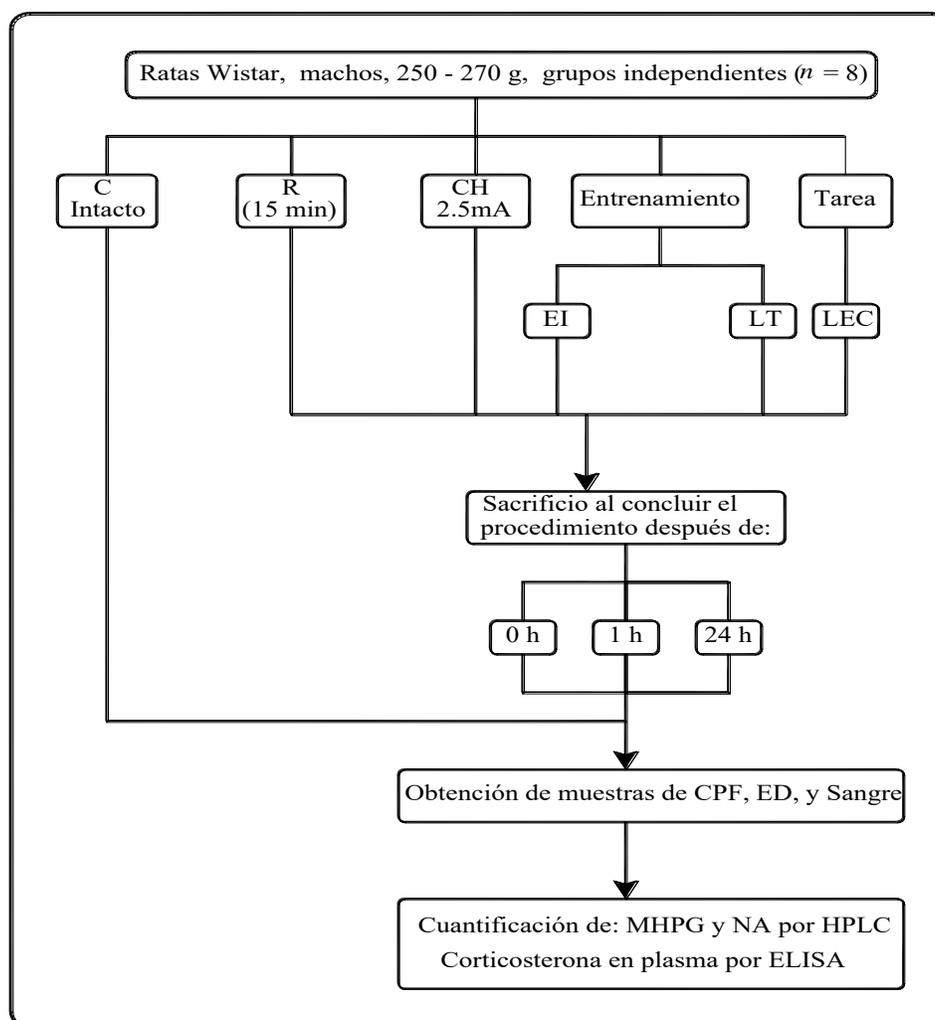


Figura 11. Metodología del Experimento 1. Estresores: R = restricción por 15 min. CH = choque de 2.5 mA; EI = tarea en cámara de evitación inhibitoria; LT = laberinto elevado en T; LEC = laberinto elevado en cruz.

La Figura 12 muestra el procedimiento para los experimentos 2, 3 y 4 en los que se utilizaron grupos de sujetos que se sometieron solo a 15 min de restricción. Terminada la restricción se evaluó la memoria en un procedimiento de EI o en LT y la ansiedad en un procedimiento de LT o de LEC. Los procedimientos se llevaron a cabo a diferentes intervalos después de haber terminado la restricción: inmediatamente, 1 hora o 24 horas después. La toma de las muestras cerebrales se realizó al terminar la prueba de la tarea.

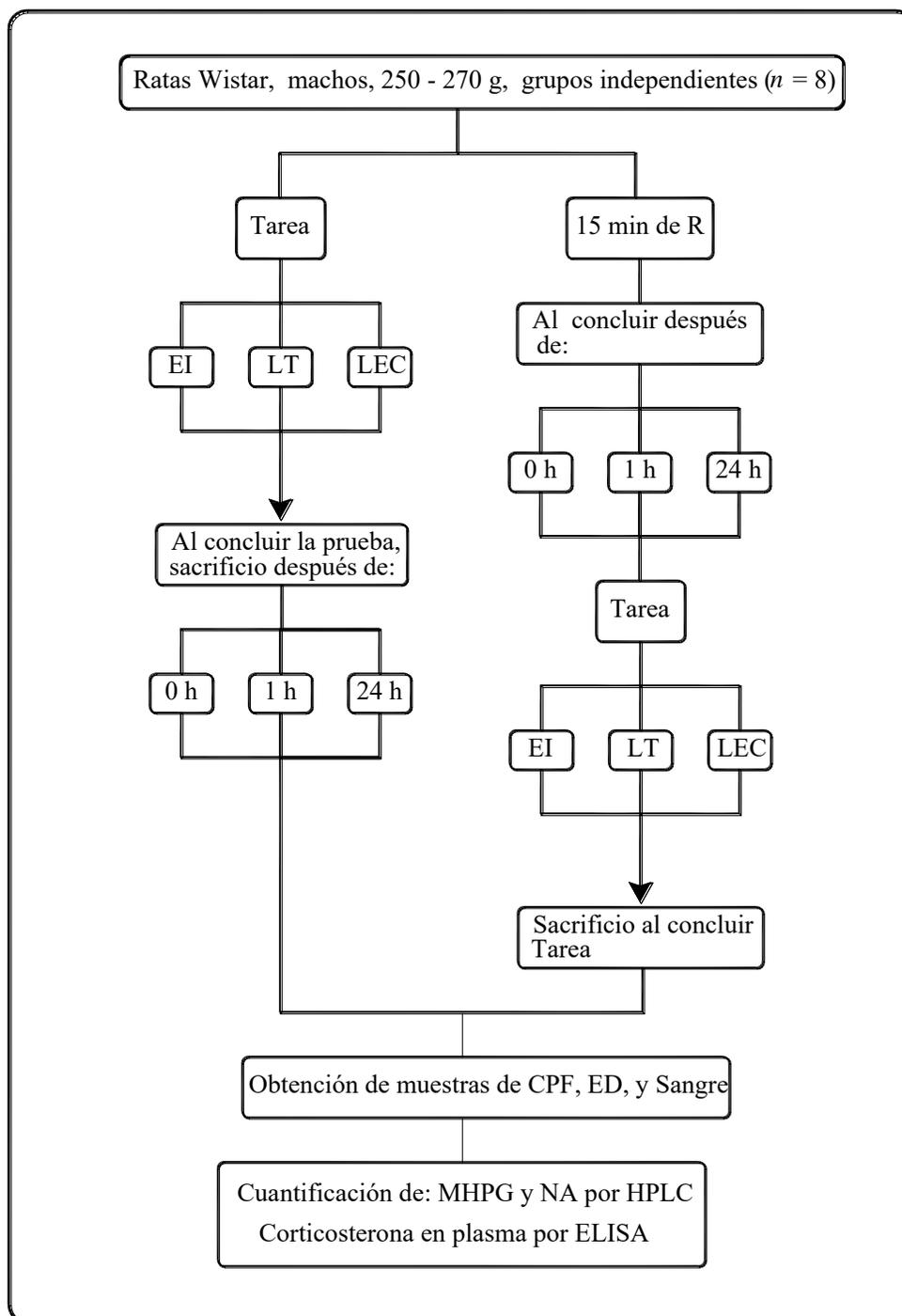


Figura 12. Metodología de los grupos que fueron sometidos a un solo tiempo de restricción y que posteriormente a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) ejecutaron una tarea. Todos los animales de cada grupo fueron sacrificados al terminar la prueba. Se utilizó un grupo intacto como grupo control (grupo no mostrado en la figura).

Abreviaturas: R = restricción; EI = evitación inhibitoria; LT = laberinto elevado en T; LEC = laberinto elevado en cruz. Las abreviaturas de las figuras presentadas se mantienen constantes durante el trabajo.

11.2. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los grupos experimentales fueron comparados con el grupo intacto (Control). Para el caso de EI, se realizó una ANOVA para cada latencia (adquisición, escape o retención), en el caso de LT para los tiempos de adquisición se realizaron ANOVAs de medidas repetidas, y ANOVA independiente para la EV3, así como para los tiempos de escape. La misma prueba se realizó en el caso de LEC para el porcentaje del número de traslados y tiempo de permanencia en los brazos cerrados y abiertos. Los resultados neuroquímicos (MHPG, NA y actividad) y la concentración de corticosterona en los grupos que ejecutaron la tarea y que fueron comparados con el grupo control (grupo intacto) fueron evaluados por la prueba de ANOVA simple. En los grupos que ejecutaron la tarea después del estrés y fueron comparados con los grupos de solo restricción del Experimento 1 (figura 11), se realizó una ANOVA de dos factores (tratamiento y tiempo). En todos los casos se aceptó como válido cuando el nivel de significancia fue de $p < .05$. Cuando se mostraron las diferencias entre los grupos, se aplicó una prueba de LSD con un nivel de significancia de $p < .05$.

12. EXPERIMENTOS

Experimento 1. Estresores

En este experimento se evaluaron los efectos de la exposición aguda de diferentes estresores: restricción de movimiento (15 min), choque CH (2.5 mA), entrenamientos en evitación inhibitoria EI y en el laberinto elevado en LT y la tarea en laberinto elevado en cruz LEC, sobre la actividad noradrenérgica y la concentración de MHPG, NA en la CPF, ED y la concentración de corticosterona en plasma.

Procedimiento.

Se utilizaron grupos de animales sometidos a restricción, choque, LT o LEC, sacrificados 0, 1 o 24 horas después de ser sometidos al estresor. Los animales sin tratamiento se utilizaron como grupo control.

Resultados

En los grupos de animales intactos sacrificados a las 12.00 o 17.00 h en los que se evaluaron valores neuroquímicos y de corticosterona, no se encontraron diferencias significativas por lo que se decidió trabajar en un horario de 14 a 18 h.

Efectos de la restricción de movimiento

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos. La actividad noradrenérgica de la CPF y el ED no fue modificada por la restricción. La concentración de MHPG en la CPF de los animales sacrificados a tiempos 0 o 1 h, fue menor que en el grupo control $F(3,24) = 9.785, p < .001$. En el ED la concentración de MHPG en los animales sacrificados al tiempo 1 o 24 h fue menor que en el grupo control $F(3,26) = 7.79, p < .001$, mientras que la de NA en los animales sacrificados al tiempo 24 h fue mayor respecto a todos los demás grupos $F(3,26) = 48.68, p < .001$.

Tabla 1. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica y la concentración (ng/mg) de NA y MHPG de la CPF y del ED en ratas que fueron sometidas a 15 minutos de restricción y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h). C= control; R=restricción.

CORTEZA PREFRONTAL				ESTRIADO DORSAL			
TRAT	ACT	MHPG	NA	TRAT	ACT	MHPG	NA
C	2.7 \pm 1.09	1.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.08	C	1.6 \pm 1.2	2.3 \pm 0.4	0.7 \pm 0.4
R 0	0.9 \pm 0.3	0.1 \pm 0.03*	0.2 \pm 0.04	R 0	1.9 \pm 0.5	1.3 \pm 0.6	0.6 \pm 0,7
R 1	2.3 \pm 0.7	0.3 \pm 0.05*	0.3 \pm 0.09	R 1	0.0	0.07 \pm 0.03**	0.0
R 24	2.7 \pm 1.9	1.4 \pm 0.3	0.06 \pm 0.04	R 24	0.04 \pm 0.01	0.2 \pm 0.02**	5.7 \pm 0.5***

* $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$ todos vs control.

La concentración de corticosterona en las ratas sometidas a restricción sacrificadas al intervalo 0 h fue mayor que en el grupo control y que en los sacrificados 1 o 24 h después $F(3, 19) = 4.68, p < .01$. (Figura 13)

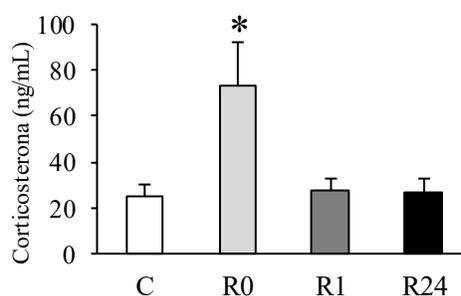


Figura 13. Media (\pm EEM) de la concentración de corticosterona (ng/mL) en plasma en ratas sometidas a R y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) * $p < .05$

Efectos del choque

La actividad noradrenérgica en la CPF y el ED en los animales sometidos a choque fue semejante a la del grupo control. La concentración de MHPG en la CPF de los tres grupos de ratas sometidas a choque fue menor que el control $F(3,28) = 16.40, p < .001$, mientras que la de NA fue similar. En el ED, la concentración de MHPG en los animales sacrificados en el tiempo 0 y 1 h fue menor que en el grupo control $F(3,28) = 5.30, p < .01$, mientras que la de NA en los animales sacrificados a las 24 h fue mayor respecto a todos los grupos $F(3,28) = 13.37, p < .001$ (Tabla 2).

Tabla 2. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica y la concentración (ng/mg) de NA y MHPG de la CPF y del ED en ratas que fueron sometidas a choque (2.5 mA) y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h).

CORTEZA PREFRONTAL				ESTRIADO DORSAL			
TRAT	ACT	MHPG	NA	TRAT	ACT	MHPG	NA
C	2.7 \pm 1.09	1.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.08	C	1.6 \pm 1.2	2.3 \pm 0.4	0.7 \pm 0.4
CH 0	0.9 \pm 0.02	0.1 \pm 0.03**	0.1 \pm 0.01	CH 0	1.8 \pm 0.5	0.4 \pm 0.1*	0.5 \pm 0.3
CH 1	0.9 \pm 0.2	0.2 \pm 0.03**	0.2 \pm 0.02	CH 1	0.4 \pm 0.3	0.02 \pm 0.01**	0.1 \pm 0.03
CH 24	1.1 \pm 0.5	0.3 \pm 0.07**	0.4 \pm 0.1	CH 24	1.0 \pm 0.6	1.6 \pm 0.8	3.8 \pm 0.8***

* $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$ todos vs control.

La concentración de corticosterona en los animales sometidos a choque sacrificados 1 h después fue mayor que en el grupo control $F(3,19) = 3,8$, $p < .05$ (Figura 14).

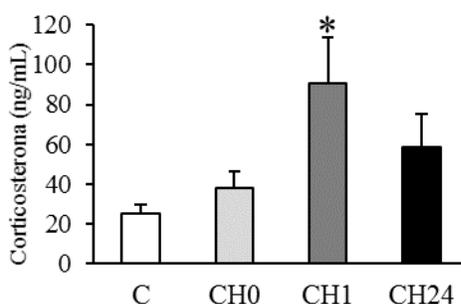


Figura 14. Media (\pm EEM) de la concentración de corticosterona (ng/mL) en plasma en ratas sometidas a choque y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) * $p < .05$.

Efecto del entrenamiento en evitación inhibitoria

El entrenamiento en la cámara de evitación no modificó la actividad noradrenérgica en la CPF y el ED. La concentración de MHPG en la CPF en los animales sacrificados a las 24 h fue mayor que en el grupo control $F(3,24) = 4.43$, $p < .05$, mientras que la de NA fue similar. En el ED la concentración de MHPG y NA fueron semejantes al grupo control (Tabla 3). La concentración plasmática de corticosterona en los grupos experimentales fue similar al grupo control (datos no mostrados).

Tabla 3. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica y la concentración (ng/mg) de NA y MHPG de la CPF y del ED en ratas que fueron sometidas al entrenamiento en evitación inhibitoria y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h).

CORTEZA PREFRONTAL				ESTRIADO DORSAL			
TRAT	ACT	MHPG	NA	TRAT	ACT	MHPG	NA
C	2.7 \pm 1.09	1.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.08	C	1.6 \pm 1.2	2.3 \pm 0.4	0.7 \pm 0.4
E EI 0	6.8 \pm 1.0	1.17 \pm 0.2	0.18 \pm 0.03	E EI 0	3.6 \pm 0.9	2.2 \pm 0.5	0.7 \pm 0.2
E EI 1	13.2 \pm 4.7	2.1 \pm 0.2	0.8 \pm 0.4	E EI 1	4.5 \pm 1.2	2.9 \pm 0.8	1.1 \pm 0.4
E EI 24	6.47 \pm 2.6	3.1 \pm 0.7*	0.1 \pm 0.05	E EI 24	4.7 \pm 0.6	2.8 \pm 0.6	0.6 \pm 0.1

* $p < .05$ vs control.

Efecto del entrenamiento en laberinto elevado en T

El entrenamiento en el LT no modificó la actividad noradrenérgica, la concentración de MHPG y NA en la CPF. En el ED la actividad noradrenérgica en animales sacrificados en el tiempo 0 h fue menor que en los sacrificados al intervalo 1 h. La concentración de MHPG en el grupo de animales sacrificado al tiempo 0 h fue menor que en el grupo control y que el sacrificado a las 24 h $F(3,26) = 7.66$, $p < .001$, mientras que la de NA en éste último grupo fue mayor respecto a todos los grupos $F(3,26) = 5.86$, $p < .01$ (Tabla 4). La concentración de corticosterona en los grupos experimentales fue similar al grupo control (datos no mostrados).

Tabla 4. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica y la concentración (ng/mg) de NA y MHPG de la CPF y del ED en ratas que fueron sometidas al entrenamiento en laberinto elevado en T y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h).

CORTEZA PREFRONTAL				ESTRIADO DORSAL			
TRAT	ACT	MHPG	NA	TRAT	ACT	MHPG	NA
C	2.7 \pm 1.09	1.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.08	C	1.6 \pm 1.2	2.3 \pm 0.4	0.7 \pm 0.4
E LT 0	0.4 \pm 0.08	0.07 \pm 0.01	0.2 \pm 0.02	E LT 0	0.06 \pm 0.04 ⁺⁺	0.1 \pm 0.08**	0.4 \pm 0.3
E LT 1	4.8 \pm 1.2	0.7 \pm 0.3	0.2 \pm 0.01	E LT 1	3.5 \pm 0.8	1.3 \pm 0.5	0.3 \pm 0.9
E LT 24	1.2 \pm 1.4	0.5 \pm 0.4	0.4 \pm 0.1	E LT 24	1.4 \pm 0.4	2.7 \pm 0.6	2.4 \pm 0.6*

* $p < .05$; ** $p < .01$, todos vs control; ++ $p < .01$ vs 1 h

Efectos de la tarea en el LEC

La actividad noradrenérgica en la CPF de las ratas expuestas al LEC y sacrificadas al tiempo 1 h fue mayor respecto a todos los grupos $F(3,26) = 8.03$, $p < .001$. La concentración de MHPG fue menor en los animales sacrificados en el intervalo 0 h o 24 h que en el grupo control $F(3,26) = 10.01$, $p < .001$, mientras que la de NA fue semejante al grupo control. En el ED la actividad noradrenérgica fue similar al grupo control. La concentración de MHPG en los grupos de animales sacrificados en el intervalo 0 y 1 h fue menor que el control $F(3,27) = 6.44$, $p < .01$ y la de NA en las ratas sacrificadas en el tiempo 24 h fue mayor que el control y que el grupo sacrificado al tiempo 0 h $F(3,27) = 7.69$, $p < .001$ (Tabla 5).

La concentración de corticosterona en los grupos sometidos a la tarea LEC fue semejante al grupo control (datos no mostrados).

Tabla 5. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica y la concentración (ng/mg) de NA y MHPG de la CPF y del ED en ratas que fueron sometidas a la tarea en el laberinto elevado en cruz y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h).

CORTEZA PREFRONTAL				ESTRIADO DORSAL			
TRAT	ACT	MHPG	NA	TRAT	ACT	MHPG	NA
C	2.7 \pm 1.09	1.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.08	C	1.6 \pm 1.2	2.3 \pm 0.4	0.7 \pm 0.4
LEC 0	3.6 \pm 0.8	0.5 \pm 0.1*	0.2 \pm 0.03	LEC 0	0.0	0.2 \pm 0.03**	0.0
LEC 1	6.8 \pm 1.4*	1.3 \pm 0.2	0.2 \pm 0.02	LEC 1	1.0 \pm 0.3	0.8 \pm 0.2*	1.9 \pm 0.8
LEC 24	0.3 \pm 0.3	0.1 \pm 0.08**	0.1 \pm 0.04	LEC 24	0.4 \pm 0.1	1.2 \pm 0.5	3.1 \pm 0.5***

* $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$ todos vs control.

Discusión.

Según Blanchard, Mckittrick y Blanchard (2001) y Shanks, Griffiths & Anisman, (1994), los efectos de un estresor sobre la reactividad fisiológica y psicológica del individuo dependen de la naturaleza del mismo. Los resultados de este experimento muestran que los dos estresores considerados graves para el animal (restricción y choque), modifican el sistema noradrenérgico de la CPF y del ED y resultan en un aumento de la concentración de corticosterona. En cambio, la exposición a los otros estresores también

modificó el sistema noradrenérgico de ambas estructuras nerviosas, sin que se observaran cambios en la concentración de corticosterona. Por lo anterior, proponemos que los mecanismos que explican los cambios en el sistema noradrenérgico son diferentes en función del estresor y que no siempre dependen del aumento de la concentración de corticosterona.

Experimento 2. Efecto del estrés sobre la memoria de la tarea de EI

Este experimento fue diseñado para examinar los efectos de la exposición a 15 min de estrés por restricción sobre la memoria de una tarea de evitación inhibitoria y sobre la concentración plasmática de corticosterona, la actividad noradrenérgica, la concentración de MHPG y NA en la CPF y el ED en ratas.

Procedimiento

Se utilizaron grupos de animales sometidos a la tarea de EI que fueron sacrificados a 0, 1 o 24 horas después de ser sometidos a la prueba y grupos sometidos a restricción seguida de la tarea de evitación inhibitoria que fue ejecutada a diferentes tiempos después 0, 1 o 24 h. Estos grupos fueron sacrificados al concluir la prueba.

Resultados

Efecto de la restricción sobre la memoria

La Figura 15 y la Tabla 6 muestran los resultados de los animales sometidos a restricción que ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria (Grupos REI). Las latencias de retención, adquisición y escape, fueron similares al grupo control (EI). Aunque no se presentaron diferencias significativas en la retención se observó disminución no significativa de las latencias a lo largo del tiempo.

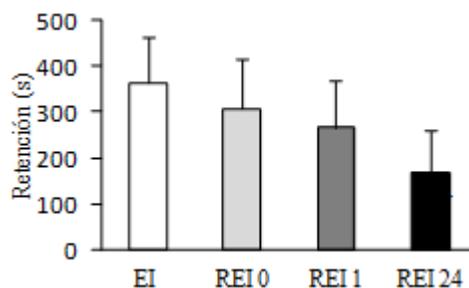


Figura 15. Media (\pm EEM) de las latencias de retención (s) en sujetos sometidos a restricción y que ejecutaron el entrenamiento de EI a diferentes intervalos (0, 1 o 24 h) después de estrés.

Tabla 6. Media (\pm EEM) de las latencias (s) de adquisición y escape de sujetos que ejecutaron la tarea de EI a diferentes horas (0, 1 o 24) después del estrés.

TRATAMIENTO	ADQUISICIÓN (s)	ESCAPE (s)
EI	19.6 \pm 5	3.3 \pm 0.7
R+EI 0	16.6 \pm 5.8	3.5 \pm 0.7
R+EI 1	12.8 \pm 2.8	4.7 \pm 2.8
R+EI 24	18.1 \pm 23	3.8 \pm 0.1.1

Resultados neuroquímicos

Efectos de la tarea de evitación inhibitoria

La actividad noradrenérgica y la concentración de NA de la CPF de ratas que ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria fue similar al control, pero la concentración de MHPG fue menor en los animales sacrificados en el tiempo 0, $F(3,30) = 4.60$, $p < .01$. En el ED en los animales sacrificados en el intervalo 24 h la actividad noradrenérgica fue mayor que en las sacrificadas en el tiempo 0 o 1 h $F(3,28) = 3.04$, $p < .05$. La concentración de MHPG en el grupo sacrificado en el tiempo 0 fue menor que el grupo control $F(3,30) = 4.8$, $p < .01$. En cambio, la concentración de NA en el grupo sacrificado en el tiempo 1 h, fue mayor que en los grupos control y el grupo sacrificado al tiempo 0 h $F(3,28) = 3.33$, $p < .05$ (Tabla 7).

Tabla 7. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica, concentración (ng/mg) de NA y MHPG de la CPF y del ED en ratas sometidas a la tarea de evitación inhibitoria y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) después de concluida la prueba. C = control; EI = evitación inhibitoria; 0, 1 o 24 h = tiempos de sacrificio.

CORTEZA PREFRONTAL				ESTRIADO DORSAL			
TRAT	ACT	MHPG	NA	TRAT	ACT	MHPG	NA
C	2.7 \pm 1.09	1.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.08	C	1.6 \pm 1.2	2.3 \pm 0.4	0.7 \pm 0.4
EI 0	0.6 \pm 0.1	0.1 \pm 0.03**	0.2 \pm 0.02	EI 0	0.5 \pm 0.3	0.1 \pm 0.04*	0.2 \pm 0.1
EI 1	1.5 \pm 0.8	0.5 \pm 0.2	0.2 \pm 0.1	EI 1	1.1 \pm 0.5	2.0 \pm 1.0	2.5 \pm 0.8* +
EI 24	3.7 \pm 1.4	0.8 \pm 0.3	0.2 \pm 0.05	EI 24	3.7 \pm 0.8 +	4.0 \pm 0.9 ++	1.6 \pm 0.7

* $p < .05$; ** $p < .01$; + $p < .05$; + $p < .01$ todos vs EI 0; + $p < .05$; ++ $p < .01$ vs EI 0.

Figura 16 muestra la concentración de corticosterona en el grupo que fue sacrificado a tiempo 0 fue mayor que en los otros grupos experimentales $F(3,20) = 6.70$, $p < .01$.

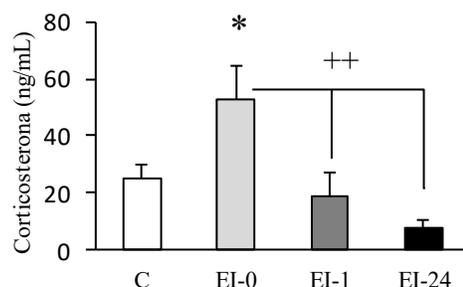


Figura 16. Media (\pm EEM) de la concentración de corticosterona en plasma (ng/mL) en ratas que ejecutaron la tarea en evitación inhibitoria y fueron sacrificados a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) después de la prueba. * $p < .05$; ++ $p < .01$ vs EI 1 y EI 24.

La comparación de los resultados del efecto del entrenamiento (Experimento 1) con los de la tarea completa (entrenamiento y prueba), sobre el sistema noradrenérgico de la CPF y el ED, muestran que la actividad noradrenérgica y la concentración del metabolito MHPG son mayores en los animales sometidos al entrenamiento que en los que realizaron la tarea completa. La concentración de NA es similar en ambos procedimientos.

La concentración de corticosterona en los grupos que sólo ejecutaron el entrenamiento no difirió del grupo control, mientras que en el grupo que ejecutó la tarea completa sacrificado en el intervalo 0 fue mayor que en el control, lo que nos sugiere que

no hay una relación del sistema noradrenérgico con la concentración de corticosterona en plasma.

Cambios en el sistema noradrenérgico en ratas sometidas a restricción antes de la tarea de evitación inhibitoria

El análisis de la actividad noradrenérgica en la CPF de animales sometidos a restricción o restricción y la tarea de evitación inhibitoria con un ANOVA de dos factores tiempo x tratamiento, mostró que la actividad noradrenérgica evaluada en función del tiempo transcurrido entre la aplicación y el tratamiento fueron similares $F(2,34) = 0.42, p < .66$. En el análisis de la concentración de MHPG se observó la existencia de interacción entre los dos factores $F(2,34) = 9.86, p < .001$. En el grupo que fue sometido a R y que después de 24 h ejecutó la tarea (R+EI 24), la concentración del metabolito fue menor que en el grupo sometido únicamente a restricción sacrificado a la misma hora. También hubo diferencias significativas para el factor tiempo $F(2,34) = 16.38, p < .001$, el intervalo 24 h fue diferente a los intervalos 0 o 1 h después ($p < .05, p < .01$, respectivamente). No se detectaron efectos significativos en la interacción entre factores en la concentración de NA. La concentración de NA en el intervalo 24 h fue menor respecto a los grupos de intervalos 0 y 1 h $F(2,34) = 4.47; p < .05$. No hubo diferencias en el factor tratamiento. Figuras 17 A y 17 B.

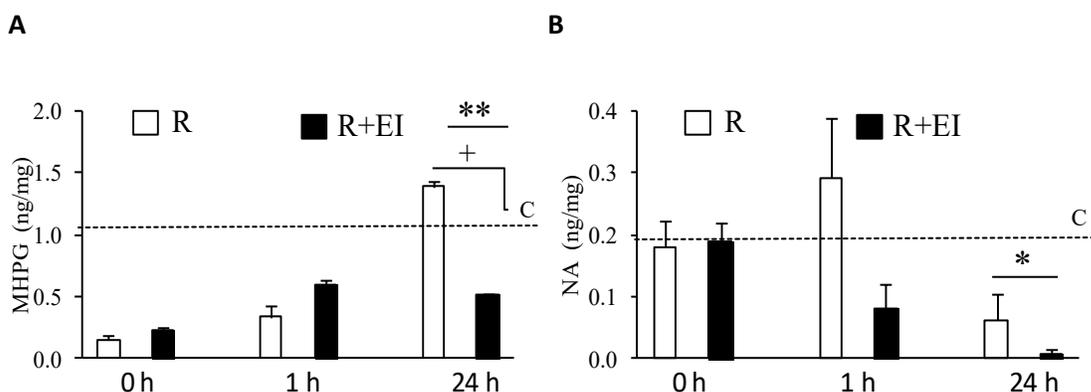


Figura 17. Media (\pm EEM) de la concentración de MHPG (A) y NA (B) (ng/mg) en la CPF en ratas sometidas a restricción y posteriormente ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) y sacrificadas después de concluida la prueba. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ ambos vs 0 h y 1 h; + $p < .05$ R vs R+EI

La Figura 18 muestra que en el ED de las ratas sometidas a restricción o a restricción más la tarea de evitación inhibitoria, la actividad noradrenérgica mostró una interacción significativa entre los dos factores $F(2,38) = 5.43, p < .01$. En los animales de los grupos R+EI que ejecutaron la tarea 1 h o 24 h después del estrés, la actividad noradrenérgica fue mayor que en los grupos con restricción sacrificados 1 o 24 h después (R1 y R24 h). El tratamiento R+EI difirió del tratamiento R $F(1,38) = 7.706, p < .01$.

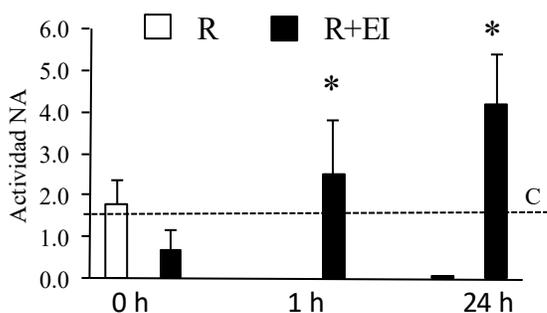


Figura 18. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica en el ED en ratas sometidas a restricción y posteriormente a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria. Sacrificio después de prueba. * $p < .05$ R vs R+EI.

Los cambios en la concentración de MHPG en el ED muestran que hubo interacción entre ambos factores $F(2,38) = 8.41, p < .01$. En el grupo R+EI que ejecutó la tarea en el tiempo 0 h la concentración del metabolito fue menor que en el grupo sometido únicamente a restricción y sacrificado en el tiempo 0 h (R 0), en tanto que los grupos R+EI que ejecutaron la tarea 1 h o 24 h después del tratamiento de estrés, tuvieron una concentración mayor que en los grupos con restricción sacrificados 1 h o 24 h después (factor tratamiento) $F(1,38) = 4.66, p < .05$, el tratamiento R+EI fue diferente respecto al tratamiento restricción $p < .05$. Figura 19 A.

Resultados similares se observaron en la concentración de NA, $F(2,38) = 8.08, P < .001$ en los animales sometidos a restricción sacrificados 24 h después, la concentración de NA fue mayor que en los otros grupos. La concentración de NA en los grupos sacrificados en el intervalo de 24 h difirió respecto a los grupos en intervalos 0 h y 1 h (factor tiempo) $F(2,38) = 8.94, P < .001$. No hubo diferencias en la concentración de NA entre los animales sometidos a R y a R+EI $F(1,38) = 0.39, p < .53$. Figura 19 B.

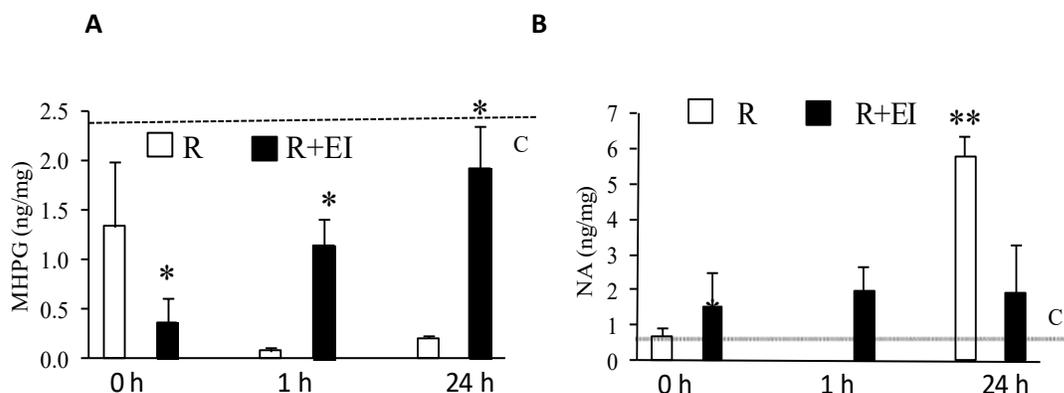


Figura 19. Media (\pm EEM) de la concentración de MHPG (A) y NA (B) (ng/mg) en el ED en ratas sometidas a restricción y posteriormente ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) y sacrificadas después de concluida la prueba. * $p < .05$; ** $p < .01$.

Los resultados de la concentración de corticosterona en las ratas sometidas a restricción y que posteriormente ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria a diferentes tiempos y en los grupos sometidos a restricción, muestran que hay una interacción entre los dos factores, $F(2,29) = 29.13$; $p < .001$. En el grupo R+EI que ejecutó la tarea en el tiempo 0 h la concentración de corticosterona fue menor en el grupo sometido a restricción sacrificado al intervalo 0 h (R 0), mientras que en el grupo que ejecutó la tarea a las 24 h la concentración fue mayor que en el grupo R 24. El intervalo 24 h difirió de los grupos a los intervalos 0 h y 1 h $F(2,29) = 10.93$, $p < .001$. El tratamiento R+EI fue diferente al tratamiento restricción sola $F(1,29) = 8.26$, $p < .01$. Figura 20.

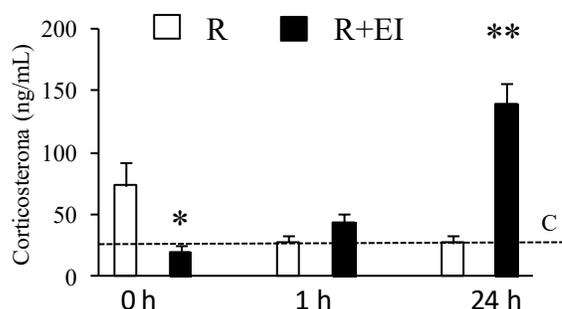


Figura 20. Media (\pm EEM) de la [corticosterona] en sujetos sometidos a restricción y después a diferentes tiempos (0, 1 o 24h) realizaron la prueba de evitación inhibitoria. Los animales se sacrificaron después de la prueba. * $p < .05$; ** $p < .001$ vs sus respectivos controles.

Discusión

La comparación de los resultados entre el entrenamiento y la tarea de evitación inhibitoria completa, nos sugieren que el entrenamiento modifica el sistema noradrenérgico en la CPF y en el ED, y que la magnitud de los cambios disminuye cuando los animales realizan el procedimiento completo con entrenamiento y prueba.

Los resultados obtenidos mostraron que en los animales sometidos a la tarea de evitación inhibitoria, la restricción no deterioró la memoria. Según McDonald y White (1994) varios factores pueden modificar los resultados obtenidos en los ensayos de retención, como el nivel de actividad espontánea de cada individuo o la ansiedad producida durante la tarea de EI (Chida, Sudo, Mori & Kubo, 2006). Los resultados obtenidos en este estudio nos sugieren que el estrés por restricción y el choque de 2.5 mA son lo suficientemente aversivos para que el evento emocional no se olvide. En las ratas que ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria el sistema noradrenérgico, se activó de manera diferente en la CPF y el ED y la magnitud de la respuesta dependió del tratamiento. Al igual que lo descrito por Hajós-Korcsok y colaboradores, (2003), el someter a los animales a la tarea de evitación inhibitoria después de la restricción resulta en cambios en la concentración de NA en la CPF y el ED que dependen de ambos estresores, es decir que un segundo estresor modifica las repuestas del primero.

En los sujetos que fueron sometidos a la tarea y sacrificados inmediatamente, la concentración de corticosterona fue mayor que la del grupo control, lo cual concuerda con lo observado por Pacák y Palkovits (2001) sobre el hallazgo de que la máxima respuesta de las adrenales al estrés se observa durante los primeros 30 minutos después de haber empezado éste.

Experimento 3. Efectos del estrés, sobre la memoria y ansiedad evaluadas en el LT

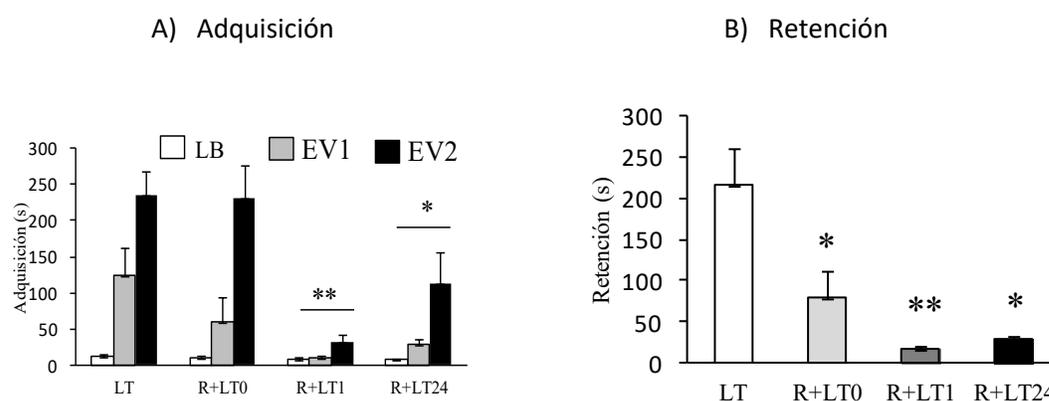
En este experimento se analizaron los efectos del estrés por restricción sobre la memoria y la ansiedad en ratas que ejecutaron la tarea de laberinto elevado en T a diferentes intervalos (0, 1 o 24 h) después de concluido el estrés, sobre la concentración plasmática de corticosterona y la concentración de MHPG y NA, y la actividad noradrenérgica en la CPF y el ED.

Procedimiento.

Se utilizaron grupos de animales sometidos la tarea en LT y sacrificados a diferentes tiempos después de concluir la prueba (0, 1 o 24 h). Otros tres grupos fueron sometidos a restricción seguida de la tarea en el LT la cual se llevó a cabo inmediatamente, a 1 o 24 h después de terminado el tiempo de la restricción, los tres grupos fueron sacrificados al terminar la prueba. Como grupo control se utilizaron animales sometidos a la tarea de LT y sacrificados en el tiempo 0 después de la prueba.

Efectos de la restricción sobre la memoria

La Figura 21 A muestra que el estrés por restricción tuvo efecto en la adquisición de la tarea en LT $F(6,56) = 4.70$; $p < .001$. Los tres ensayos de evitación de todos los grupos resultaron diferentes entre sí: la línea base con menor latencia, la evitación 1 con mayor latencia que la línea base y la evitación 2 con mayor latencia que la evitación 1 $F(2,56) = 8.39$, $p < .001$. Los grupos R+LT1 y R+LT24 mostraron menores latencias en las evitaciones comparados con el grupo control LT y R+LT0 $F(3,28) = 8.39$, $p < .001$. Las latencias de retención (EV3) en los tres grupos de animales sometidos a estrés (R-LT0, R-LT 1 y R-LT24) fueron menores que en el grupo control LT $F(3,28) = 11.33$, $p < .001$, Fífura 21 B.



Figuras 21 A y B. Promedios (\pm EEM) de cada tiempo (s), (A) latencias de evitación (adquisición) y (B) de la retención (s) en grupos sometidos a restricción previa a la tarea de LT (0, 1 o 24 h). LB = línea base; EV1= evitación 1; EV2= evitación 2; R +LT= 15 min de

R+ la ejecución en LT; 0, 1 y 24 lapso de tiempo (h) entre los 15 min de R y el entrenamiento. $**p < .01$; $*p < .05$ vs LT.

Efectos en la ansiedad.

En el grupo que ejecutó la tarea inmediatamente después del estrés (R+LT0), la latencia del ES 1 fue mayor respecto al ES 1 del grupo control LT $F(3,28) = 5.45$, $p < .01$, mostrando un efecto ansiolítico. El escape 2 en el día de la prueba en todos los grupos fue semejante al control LT (Figura 22).

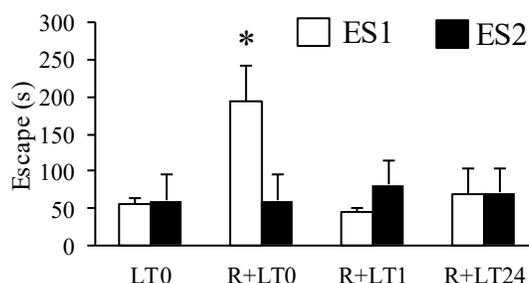


Figura 22. Medias \pm EEM de las latencias de escape (s), en grupos sometidos a restricción previa a la tarea de LT. $*p < .05$ vs LT. LT=laberinto elevado en T; R= retención; R+LT= retención + ejecución en LT; 0, 1 y 24 lapso de tiempo (h) entre la R y el entrenamiento de LT.

Resultados Neuroquímicos

Efectos de la tarea de laberinto elevado en T

En la CPF de ratas sometidas a la tarea de laberinto elevado en T, la actividad noradrenérgica, la concentración de NA y de MHPG en la CPF fueron similares al grupo control (Tabla 8).

En el ED, se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la actividad noradrenérgica $F(3,26) = 6.41$, $p < 0.01$, la concentración de MHPG $F(3,26) = 3.88$; $p < .05$ y de NA $F(3,26) = 8.25$; $p < .001$. En los animales sacrificados en el intervalo 1 la actividad noradrenérgica y la concentración de MHPG fueron mayores que el grupo control, y que en los grupos sacrificados al intervalo 0 o 24 h. En cambio, la concentración de NA en los animales sacrificados al intervalo 0 o 24 h fue mayor que en el grupo control.

No se observaron diferencias en la concentración de corticosterona y no se presentan los resultados.

Tabla 8. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica, concentración (ng/mg) de NA y MHPG de la CPF y del ED en ratas sometidas a la tarea de laberinto elevado en T y sacrificadas a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) después de concluida la prueba (0, 1 o 24 h). C = control; EI = evitación inhibitoria.

	CORTEZA PFREFRONTAL			ESTRIADO DORSAL			
TRAT	ACT	MHPG	NA	TRAT	ACT	MHPG	NA
C	2.7 \pm 1.09	1,1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.08	C	1.6 \pm 1.2	2.3 \pm 0.4	0.7 \pm 0.4
LT0	2.0 \pm 1.1	0.5 \pm 0.2	0.2 \pm 0.08	LT0	0.9 \pm 0.5	1.1 \pm 0.2	3.2 \pm 1.0*
LT1	2.1 \pm 1.4	0.5 \pm 0.3	0.4 \pm 0.1	LT1	7.8 \pm 2.1*++	4.6 \pm 1.2*+	1.1 \pm 0.4
LT24	1.2 \pm 1.1	0.6 \pm 0.2	0.1 \pm 0.07	LT24	0.9 \pm 0.6	1.9 \pm 0.6	5.3 \pm 1.0**++

* $p < .05$; ** $p < .01$ vs C; + $p < .05$ vs LT 0; ++ $p < 0.01$ vs LT0, LT24 y LT1 respectivamente.

Efectos de la restricción sobre la tarea de LT

La actividad noradrenérgica en la CPF en ratas sometidas a restricción y a la tarea de LT, fue similar a la del grupo control $F(2,37) = 1.1$, $p = .35$, datos no mostrados.

Las modificaciones en la concentración de MHPG indican una interacción de los efectos del tratamiento y el tiempo $F(2,37) = 19.66$, $p < .001$. En el grupo R24, la concentración fue mayor que en los otros grupos $p < .01$. Los efectos de la restricción fueron distinto al tratamiento R+LT $F(1,37) = 11.41$, $p < .01$. La concentración de MHPG en el tiempo 24 h difirió de los tiempos 0 h y 1 h $F(2,37) = 9.29$, $p < .001$. En el grupo R+LT1 la concentración de NA fue menor que en el grupo R1 y se observó una interacción entre los factores $F(2,37) = 5.47$, $p < 0.01$. No se mostraron diferencias significativas para los factores tiempo y tratamiento (Figuras 23 A y 23 B).

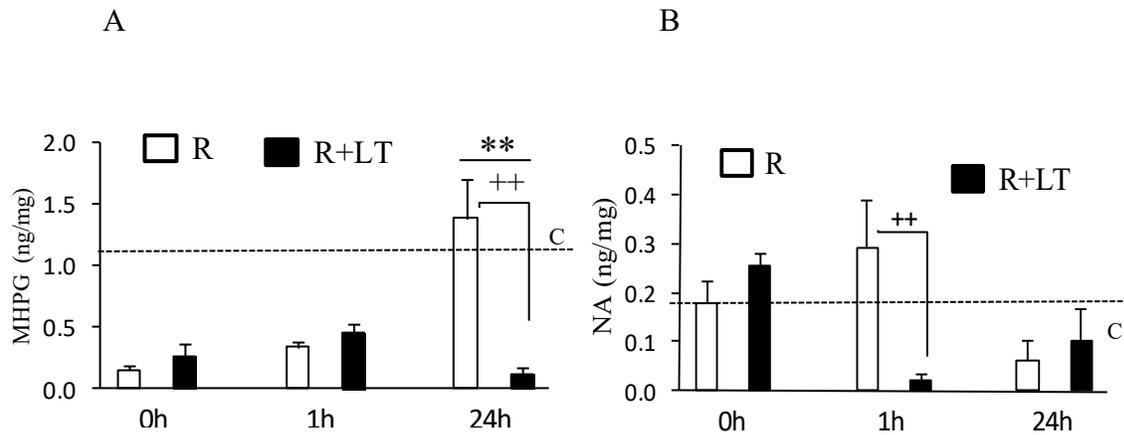


Figura 23. Media (\pm EEM) de la concentración de MHPG (A) y NA (B) (ng/mg) en la CPF en ratas sometidas a restricción y posteriormente ejecutaron la tarea de laberinto elevado en T a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) y sacrificadas después de concluida la prueba. $**p < .01$ vs todos; $++p < .001$ vs R.

La Figura 24 muestra que las modificaciones en la actividad noradrenérgica del ED muestran una interacción del tratamiento y el tiempo $F(2,35) = 4.48$, $p < 0.05$. El grupo R+LT1 mostró mayor actividad que el grupo R1. También se detectaron diferencias significativas por tratamientos $F(1,35) = 4.92$, $p < .05$.

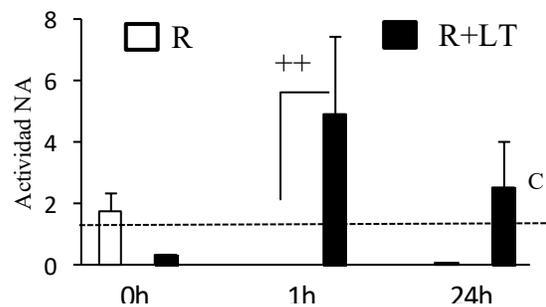


Figura 24. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica en el ED en sujetos sometidos a restricción y sacrificados a diferentes tiempos (0, 1 ó 24h) y sujetos que ejecutaron la tarea de LT a diferentes tiempos (0, 1 o 24h) después de la restricción y sacrificados inmediatamente después de la prueba. $++p < .01$ R+LT1 vs R1.

Las Figuras 25 A y 25 B muestran que hay interacción de factores en las modificaciones en la concentración de MHPG $F(2,35) = 14.26, p < .001$, la concentración en el grupo R+LT1 fue mayor que en el grupo R1. Los tratamientos difirieron entre sí $F(1,35) = 17.23, p < .001$, el tratamiento R fue diferente al tratamiento R+LT. En la concentración de NA hubo interacción entre los factores $F(2,35) = 29.14, p < .001$, los animales sometidos a restricción y sacrificados a las 24 h después, presentaron mayor concentración en comparación del grupo que ejecutó la tarea 24 h después del estrés (R+LT24), mientras que en el grupo sometido a restricción sacrificado una hora después (R1) la concentración fue menor que el grupo que recibió estrés y ejecutó la tarea 1 h después (R+LT1). El intervalo 24 h fue diferente al intervalo 0 h y a 1 h $F(2,35) = 39.08, p < .001$. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas por tratamiento como puede observarse en la Figura 25 B.

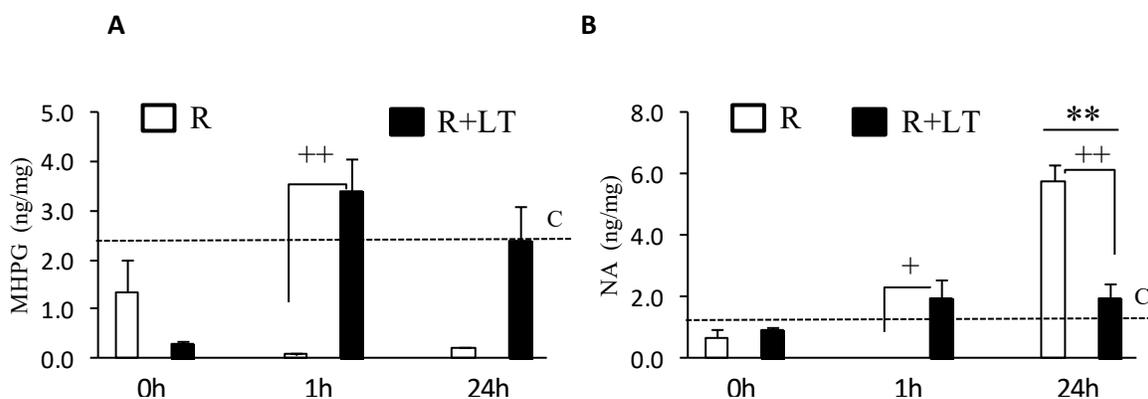


Figura 25. Media (\pm EEM) de la concentración de MHPG (A) y NA (B) (ng/mg) en el ED en ratas sometidas a restricción y posteriormente ejecutaron la tarea de laberinto elevado en T a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) y sacrificadas después de concluida la prueba. $**p < .01$ vs 0 h y 1 h; $++p < .01$.

Efectos en la concentración de corticosterona.

El análisis de los resultados de la concentración de corticosterona muestra que el factor intervalo explica las diferencias observadas, ya que el tratamiento no influyó sobre los resultados $F(2,29) = 4.23, p < .05$. Al intervalo 1 h la concentración de corticosterona fue menor que al intervalo 0 h $p < .01$ (Figura 26).

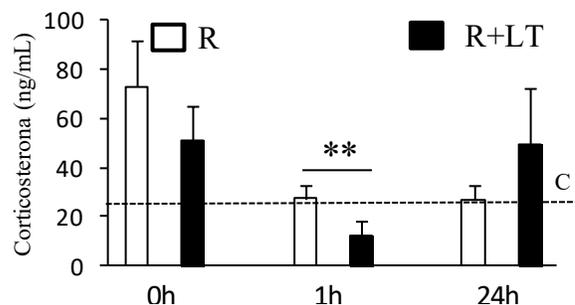


Figura 26. Media (\pm EEM) de la concentración de corticosterona (ng/mL) en sujetos sometidos a R sacrificados a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) y sujetos que ejecutaron la tarea de LT a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) después de restricción y sacrificados inmediatamente después de la prueba. $**p < .01$ 1 h vs 0 h.

Discusión

Los resultados de este estudio muestran que la restricción produjo amnesia en los animales que ejecutaron la tarea de LT, lo que coincide con otros estudios que muestran que el estrés deteriora la memoria (Cruz-Morales et al., 2008; Diamond et al., 2006; Sandi et al., 2005). La exposición a la restricción antes de la ejecución de la tarea en LT causó solo en el grupo (R+LT0) un efecto ansiolítico en el escape 1 (ES1), lo que se puede atribuir a la reactividad de cada sujeto y al intervalo en el que se ejecutó la tarea, ya que 24 h después en la prueba en el ES2 las latencias fueron semejantes en todos los grupos. Dado que los resultados del ES2 se consideran respuestas a la ansiedad, se propone que la restricción no afectó la ansiedad, lo cual coincide con los estudios de Custódio, Zangrossi y Graeff (2000).

Dada las diferencias significativas que se observaron en el ED se sugiere que el sistema noradrenérgico de ésta región participa importantemente cuando los animales ejecutan la tarea en LT.

Experimento 4. Efectos del estrés sobre la ansiedad evaluada en el LEC

En éste experimento se evaluaron los efectos del estrés por restricción sobre la ansiedad evaluada en el LEC, así como la concentración plasmática de corticosterona, la concentración de MHPG y NA, y la actividad noradrenérgica en la CPF y el ED.

Procedimiento

Los resultados de los efectos de la tarea sobre el sistema noradrenérgico y la concentración de corticosterona se presentaron en el Experimento 1, por lo que en este experimento únicamente se presentan los resultados conductuales, neuroquímicos y de corticosterona en la ansiedad de ratas que ejecutaron la tarea de LEC bajo los efectos del estrés.

Resultados

Efecto de 15 min de R sobre la ansiedad en la tarea en LEC

La restricción no modificó la realización de la tarea en LEC. Todas las medidas evaluadas de los grupos R+LEC fueron semejantes a las del grupo LEC. Tabla 9

Tabla 9. Media (\pm EEM) de las medidas de ansiedad en el LEC. Un grupo realizó únicamente la tarea y 3 grupos sometidos a R + LEC a diferentes tiempos después de la R (0, 1 o 24 h después). E BA = entrada en brazos abiertos; T BA = tiempo en brazos abiertos; Tot. de Ent. = total de entradas; T en C = tiempo en el centro.

Tratamiento	% E BA	% T BA	Tot. de Ent.	% T en C
LEC	29.8 \pm 5.5	12.9 \pm 3.5	10.5 \pm 1.4	6.58 \pm 1.38
R+LEC0	35.8 \pm 7-0	25.7 \pm 4.2	8.75 \pm 1.8	21.08 \pm 1.8
R+LEC1	28.7 \pm 6.8	20.8 \pm 5.2	7.87 \pm 1.6	7.25 \pm 1.65
R+LEC24	28.1 \pm 5.0	16.5 \pm 5.0	10.75 \pm 1.7	7.08 \pm 571

Resultados Neuroquímicos

El análisis de los resultados indican que la actividad noradrenérgica en la CPF presentó diferencias en función del tratamiento $F(1,37) = 4.17, p < .05$. En el ED se observó una interacción entre el tratamiento y el intervalo lo que explica los cambios en la actividad noradrenérgica $F(2,33) = 6.41, p < .01$. El grupo sometido a restricción y

sacrificado en el intervalo 0 (R0) mostró mayor actividad respecto a todos los demás grupos del experimento. Al intervalo 1 h la actividad fue menor que en los otros dos intervalos $F(2,33) = 4.47, p < .05$. Figuras 27 A y 27 B

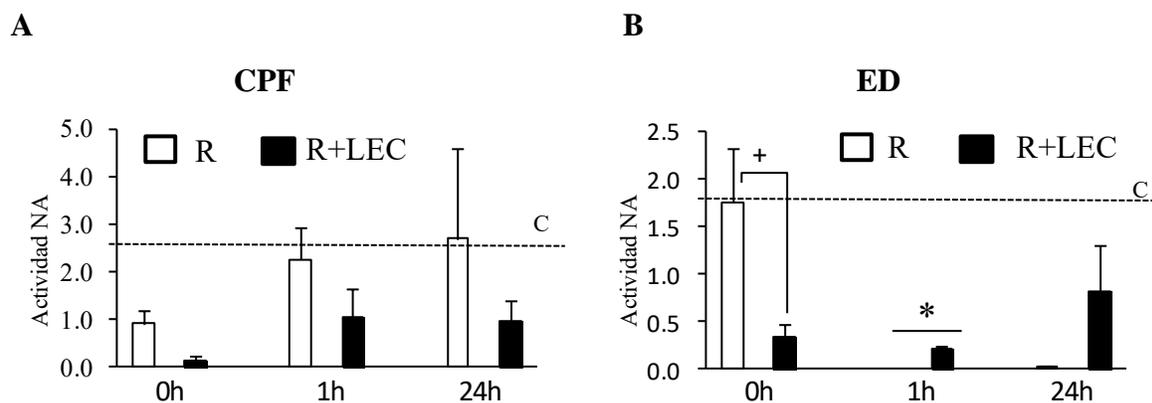


Figura 27. Media (\pm EEM) de la actividad noradrenérgica en la CPF (A) y el ED (B) en sujetos expuestos al LEC a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) después de restricción y sacrificados inmediatamente de concluida la tarea. A) Efectos en la CPF, B) efectos en el ED. * $p < .05$ 1 h vs 0 y 24 h; + $p < .05$ R0 vs R+LEC 0.

Las modificaciones en la concentración de MHPG en la CPF muestran una interacción entre el factor tratamiento e intervalo $F(2,37) = 13.40, p < .001$. En el grupo sometido a restricción y expuesto al LEC 24 h después, la concentración fue menor que en el grupo con restricción sacrificado 24 h después. En los animales sacrificados a los intervalos 0 y 1 h la concentración de MHPG fue similar al grupo con restricción. El factor intervalo $F(2,37) = 13.42, p < .001$, el grupo de 24 h difirió de los grupos a los intervalos 0 y 1 h, y en este mismo intervalo, los tratamiento fueron diferentes entre sí $F(1,37) = 4.74, p < .05$. En el ED no se observaron diferencias en la concentración de MHPG $F(2,33) = 2.6, p < .05$, (ver Figura 28).

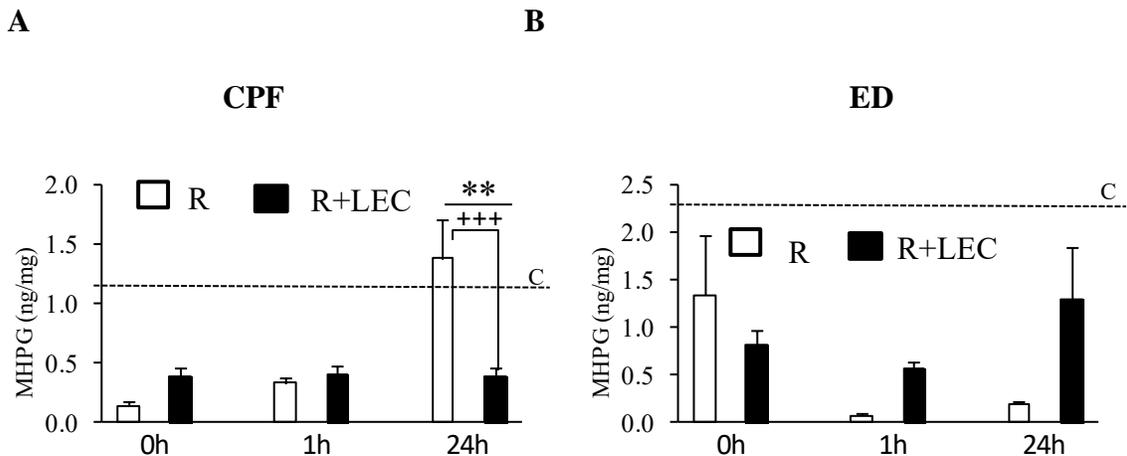


Figura 28. Media (\pm EEM) de la [MHPG] (ng/mg) en la CPF (A) y el ED (B) en sujetos que ejecutaron la tarea de LEC a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) después de la restricción y sacrificados inmediatamente al concluir la tarea. A) efectos en la CPF $**p < .01$ vs 0 h y 1 h; $+++p < .001$ R24 vs R+LEC 24; A) efectos en la CPF; B) efectos en el ED.

En comparación con la restricción, la concentración de NA en la CPF no fue modificada por la restricción más LEC $F(2,37) = 0.9$, $p = .4$. En el ED los cambios en la concentración de NA muestran una interacción entre los factores tratamiento e intervalo $F(2,33) = 30.24$, $p < .001$. en los intervalos 0 y 1h la concentración en el grupo R+LEC 0 fue mayor que el grupo R 0, $p < .001$, mientras que a las 24 h los efectos fueron inversos (grupo R 24 > grupo R+LEC 24, $p < .001$). Se observa que tanto el intervalo como el tratamiento están interactuando, ya que los pares de grupos en el mismo tiempo se comportan en forma diferente Figuras 29 A y 29 B.

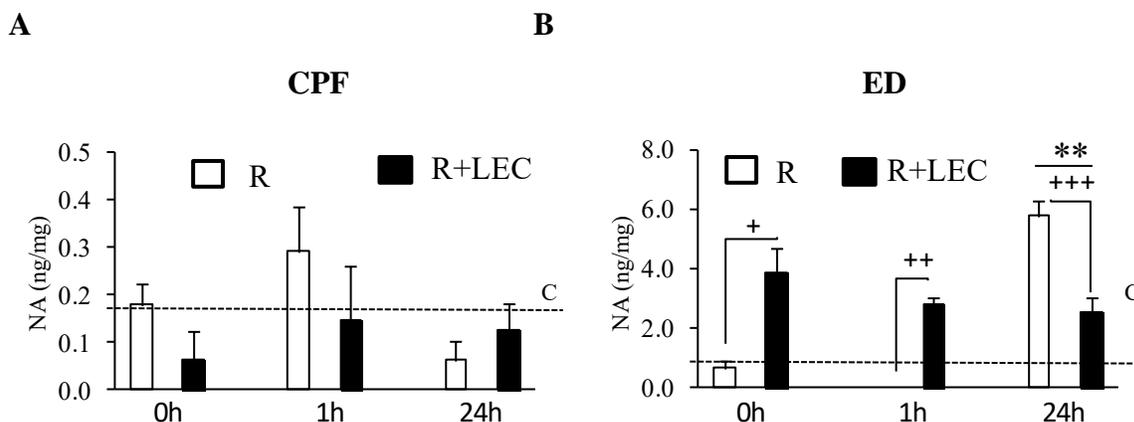


Figura 29. Media (\pm EEM) de la concentración de NA (ng/mg) en la CPF (A) y el ED (B), en sujetos que ejecutaron la tarea de LEC a diferentes tiempos (0, 1 o 24 h) después de la restricción y sacrificados inmediatamente al concluir la tarea A) efectos en la CPF y B) efectos en el ED. ** $p < .01$ vs 0 h y 1 h; +++ $p < .001$ R 24 vs R+LEC 24.

La concentración de corticosterona en los animales sacrificados al intervalo 0 h fue mayor que en el grupo control, $F(2,27) = 7.16$, $p < .05$, lo que no ocurrió en los grupos sacrificados a los los intervalos 1 h y 24 h (Figura 30).

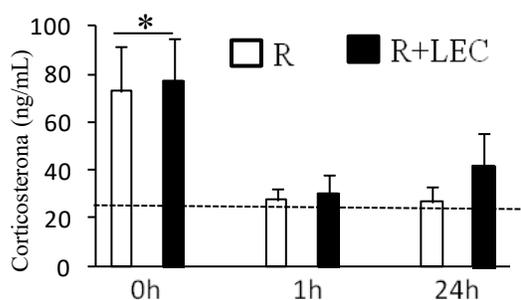


Figura 30. Media (\pm EEM) de la concentración de corticosterona en ratas que ejecutaron la tarea de LEC a diferentes tiempos (0, 1 o 24h) después de la restricción y sacrificados inmediatamente al concluir la tarea. * $p < .05$ 0 h vs 1 h y 24 h.

Discusión

Los resultados del presente estudio muestran que la restricción de movimiento no modifica la ansiedad en animales sometidos al LEC. Las diferencias en la actividad noradrenérgica del sistema noradrenérgico de la CPF y del ED frente a restricción o a la

restricción seguida de la exposición al LEC se explican por los cambios en las concentraciones del metabolito.

El aumento en la concentración de corticosterona en los animales sometidos a restricción+LEC son el reflejo de los efectos de la restricción y no de la exposición al LEC.

13. DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de este estudio muestran que la exposición de las ratas a estresores físicos y psicológicos modifican la respuesta conductual, hormonal, y noradrenérgica de la CPF y ED y apoyan lo propuesto por Shors y Horvath (2004) sobre que la integración de varios sistemas neurales y periféricos median los cambios fisiológicos y conductuales ocasionados por la respuesta a un estresor.

McEwen y Gianaros, (2010) y Ramos y Mormède, (1998) mostraron que existe gran variabilidad de respuestas entre individuos de la misma especie sometidos a diferentes tipos de estresores. Joels, Pu, Wiergert, Oitzl & Krugers, (2006) y Miura, Qiao & Ohta (2002) proponen que la reactividad de los sujetos a diferentes estresores puede ser diferente para las respuestas neuroendócrinas y conductuales esta variabilidad en las respuestas neuroendocrinas, conductuales y neuroquímicas también fue observada en nuestro estudio en animales expuestos a diferentes estresores.

Shah y Treit, (2003) y Das, Rai, Dikshit, Palit y Nath, (2005) propusieron que los cambios temporales en las monoaminas cerebrales en respuesta a un estresor dependen del estresor, la duración e intensidad del mismo. Los resultados de nuestro estudio apoyan dicha interpretación.

Miura et al., (2002) describen a la restricción de movimiento y al choque como estresores graves, pero según la literatura consultada los autores no consideran a los entrenamientos de las tareas como estresores. Los resultados del presente estudio confirman que la restricción y el choque son estresores graves ya que su aplicación resultó en el mayor número de cambios en el sistema noradrenérgico de la CPF y del ED y en la concentración de corticosterona. La exposición de un animal a un choque inescapable activa los sistemas noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico, e interfiere en la ejecución de diferentes tareas y los efectos son menores cuando se presenta un choque del cual el animal puede escapar (Heinsbroek, Van Haaren, Feenstra, Boon & Van de Poll, 1991).

El efecto de la restricción de movimiento y del choque sobre el sistema noradrenérgico fue similar, tanto en la CPF como en el ED, lo que confirma que el estrés inescapable induce a una rápida activación del sistema noradrenérgico (Konstandi, Jonson, Lang, Malamas & Marselos, 2003). Dado que los efectos en los animales que expuestos a

los entrenamientos fueron menores, se corrobora que la respuesta a un estresor es menor cuando el animal puede escapar del estresor.

Smith, Davis, Gehlert & Nomikos (2006) mostraron que la exposición de ratones a dos estresores diferentes, olor a gato o inmovilización, resulta en el aumento de la concentración de DA y acetilcolina en la corteza frontal, pero no se modificó la de NA. En nuestro estudio sólo la exposición a la tarea del LEC modificó la concentración de NA en la CPF, lo cual concuerda con lo observado por Smith y colaboradores.

El curso temporal de los cambios observados en el sistema noradrenérgico en CPF y ED, nos sugiere que las respuestas del sistema dependen del estresor y la estructura estudiada, las cuales son funcionalmente diferentes, tal y como plantean Tanaka, et al., (1991). El otro factor es el tiempo transcurrido entre la aplicación del estresor y la evaluación del sistema, tal y como ha sido propuesto previamente (Shinba, Ozawa, Yoshii & Yamamoto, 2010).

En el estudio realizado por Shinba et al. (2010), expusieron a ratas a un estrés agudo (choque intermitente por 1 h) evaluaron en hipocampo, corteza cerebral e hipotálamo, la concentración de NA a las 0, 4, 24 h después del estrés. El resultado fue un aumento significativo de la amina a las 24 h. Los investigadores explican que el estrés induce a una acumulación de NA, dado por alteración del sistema de la enzima tiroxina hidroxilasa, del sistema de recambio y de la recaptura, lo que conduce a una sobreactividad y la acumulación de la NA. Otra posible explicación es que puede estar actuando un mecanismo de regulación suplementario del sistema noradrenérgico, que protege de la continua disminución de la síntesis de NA en las primeras horas ocasionado por el estrés.

La restricción de movimiento no produjo cambios en las latencias de adquisición y de escape en la tarea de EI, lo que sugiere que los estresores no modificaron la adquisición y la consolidación de la memoria.

Según Kaneto (1997) el estrés por choque facilita la memoria hasta 96 h después de ser aplicado, lo que muestra que el estrés por el choque modula los procesos de aprendizaje y memoria: adquisición, consolidación y retención. En el presente estudio, el estrés provocado por la restricción de movimiento no modificó el proceso de memoria evaluado en la tarea de EI, ya que no mostró deterioro en ninguno de los tiempos registrados, por lo que se propone que el estrés provocado por 15 min de R no es lo suficientemente agresivo

para producir efectos en la memoria, pero el choque que se administra es de una intensidad y duración alta, por lo que se puede considerar fue muy aversivo suficiente para consolidar la memoria, tal y como ha sido propuesto (Cruz-Morales et al., 1992; Quirarte et al., 1993).

Yamada, Santos-Yamada & Wada, (2003) mostraron que la restricción de movimiento resulta en el deterioro de la memoria evaluada en la tarea de evitación inhibitoria de un solo ensayo; según, Rashidy-Pour, Sedeghi, Taherain, Vafaei & Fathollahi, (2004) la restricción de movimiento por 30 min antes del entrenamiento en una prueba de EI con un estímulo de 1 mA, deterioró la memoria, en cambio, la memoria no se modificó en ratones sometidos a 25 min de restricción de movimiento dos veces por día, que fueron sujetos 24 h más tarde a una prueba de evitación inhibitoria (Zerbib & Laborit, 1990).

Según Klenerova et al., (2003) la retención de la memoria es afectada por el tiempo que transcurre entre el estrés por restricción y la ejecución de la tarea. Los resultados de este estudio no apoyan esa conclusión, posiblemente porque los modelos utilizados para evaluar la memoria fueron diferentes.

En el estudio, se observaron diferencias en el sistema noradrenérgico de la CPF y el ED producidas por la restricción previa a la tarea de EI, lo que nos sugiere que los cambios producidos por la exposición a restricción pueden ser modificados cuando a los animales se les somete a un segundo estresor, tal y como sucedió con la concentración de corticosterona.

Numerosos estudios muestran que la restricción deteriora la memoria cuando los animales ejecutan la tarea en el LT u otros modelos de evaluación (Diamond et al., 2006; Sandi et al., 2005, Cruz-Morales et al., 2008; Arnsten, 2009). Los resultados confirman que la restricción provoca amnesia, dependiendo del modelo utilizado para medir la memoria y del lapso entre el momento en que se termina el efecto estresor y se evalúan las diferentes fases de la memoria (adquisición, consolidación y recuperación).

La sola exposición a LT no causó efecto en la ansiedad, lo cual concuerda con los estudios de Custodio et al. (2000). En este estudio el someter a los animales a restricción antes de ser expuestos al LT, resultó en un efecto ansiolítico, contrario a la hipótesis de que el estrés produce un efecto ansiogénico (Martijena, Calvo, Volosin & Molina, 1997).

La tarea de LT no modificó al sistema noradrenérgico de la CPF. La concentración de la NA se mantuvo en las concentraciones basales, indicando que algún mecanismo propio del sistema puede estar regulando la síntesis de la NA (Nakagawa, Tanaka, Kohno, Noda & Nagasaki, 1981) (Tabla 8). Al observar el comportamiento cuando se agrega la restricción de movimiento se observa que la concentración de NA se modifica en algún momento, lo que apoya la hipótesis de que la NA modula las conductas motivadas sólo cuando los estímulos son intensos y salientes (Ventura, Latagliata, Morrone, La Mela & Puglisi-Allegra, 2008).

En respuesta al LT o a la restricción seguida de la prueba de LT, la respuesta del sistema noradrenérgico de la CPF y el ED son diferentes y dependieron del lapso entre la prueba y la evaluación neuroquímica del sistema. Esto concuerda con las observaciones de diversos autores sobre la respuesta del sistema noradrenérgico de ambas regiones en animales que son enfrentados a diversos sistemas estresantes: sonido de vocalización de rata (Hu et al., 2014), luz intermitente (Ventura et al., 2008), una hora de inmovilización (Nakane et al., 1994), con nado forzado por 15 minutos (De La Garza & Mahoney, 2004) así como con una serie de choques por 30 min (Rossetti, Portas, Pani, Carboni & Gessa, 1990), y con el procedimiento de presión de la cola por 30 min (Finlay et al., 1995), cinco s a choque de 3.5 mA (Iimori, et al., 1982), prueba de evitación activa (Petkov, Stoyanova & Popova, 1989)

En el ED se observa que en los grupos que solo ejecutaron la tarea, la concentración de NA fue significativamente mayor en los grupos sacrificados al tiempo 0 y a las 24 h, lo que indica que la NA no se degradó, es decir hay una síntesis simultánea que no permite que la NA baje en su concentración (Tabla 8). Se ha visto que después de un daño en el LC o en las fibras noradrenérgicas (daño eléctrico o lesiones neurotóxicas), hay numerosas respuestas para minimizar las consecuencias funcionales de éste daño, y estas respuestas pueden ocurrir hasta cierto tiempo después (Berridge & Waterhouse, 2003).

La influencia del tiempo en la respuesta en el ED es más evidente. Se ha estudiado la expresión del gene de la tiroxina hidroxilasa (TH) bajo los efectos del estrés. La restricción de movimiento y el choque causan un rápido incremento en los niveles de RNAm de la TH en el LC y retorna a sus niveles basales entre las primeras 24 h después de iniciado el estrés (Rusnak et al., 2001).

Los resultados muestran que la restricción de movimiento no produjo efectos en la ansiedad evaluada en el LEC, contrario a lo observado por otros autores (Chotiwat & Harris, 2006; Hauber et al., 2006). Los resultados se pueden discutir desde el punto de vista de las medidas que tradicionalmente se toman en cuenta en el LEC, ya que recientemente se ha venido debatiendo si realmente miden ansiedad. Quizás en las condiciones del experimento, las medidas utilizadas como índice de ansiedad (% de tiempo en los brazos abiertos, % de entradas a los brazos abiertos, total de entradas), no propicien la visualización de extrema ansiedad, por lo que se sugiere que en investigaciones futuras se tomen en cuenta otras conductas etológicas “secundarias” como las que proponen otros autores: toma de decisión, capacidad de espera, desplazamiento, tiempo de decisión, ambulación defensiva entre otras (Campos et al., 2013; Wall & Messier, 2001). La conducta en el caso de LEC puede estar balanceada entre dos tendencias: la indecisión y la tendencia a salir de los brazos cerrados (Calatayud, Belzung & Aubert, 2004).

Existen otros factores que pueden estar influyendo en los resultados, tales como la hora en que los animales ejecutan la tarea (Griebel, Moreau, Jenck, Martin & Misslin, 1993), tipo de estresor antes de la tarea (Lister, 1987; Pellow, Copin, File & Briley, 1985; Shah & Treit, 2003), el contexto del propio laberinto como paredes transparentes u opacas (Carvalho-Netto & Nunes-de-Souza, 2004), el factor luz (Pellow et al., 1985; Becker & Grecksch, 1996; Bert, Frink, Huston & Voits, 2002) entre otros.

Se ha demostrado que la exposición a breves períodos de estrés intenso es suficiente para causar significativa remodelación estructural de las neuronas de la CPF en roedores, por lo que el estrés puede causar tanto alteraciones funcionales, así como en el aspecto emocional (Holmes & Wellman, 2009). En la CPF la única modificación en la concentración de MHPG se mostró en las ratas que ejecutaron la tarea 24 h después del estrés, la cual fue menor respecto a los animales sometidos solo a restricción, mientras que en la concentración de NA se observa el mismo efecto a la hora (Figura 28 A). Previos estudios han mostrado la intervención de la CPF (Arnsten, 2011; Weiss, 2007) y del sistema noradrenérgico en el proceso de la ansiedad (Morrow, George & Roth, 2004). La NA en la CPF dorsolateral se libera en forma de U invertida dependiendo de la situación que se presente: poca (por ejemplo en el agotamiento o la fatiga) o demasiado (por ejemplo en un estrés incontrolable) lo cual resulta en un deterioro de la función de la CPF, mientras

que se liberan concentraciones moderadas de la catecolamina, cuando el sujeto está alerta e interesado en fortalecer la función de la CPF con base a las exigencias del entorno (Arnsten, 2011), lo cual concuerda con los resultados conductuales al no tener efecto el estrés en la ansiedad. En el ED se observa que la concentración de NA de los tres grupos R+LEC se encuentran en un rango similar, por lo que se sugiere que las señales de recuperación activan varios subcircuitos basados supuestamente en una red amígdalo-prefrontal-estriado (Boutreau et al., 2004).

Las diferencias en la actividad noradrenérgica en la CPF y el ED en los animales sometidos a estrés leve (entrenamiento y prueba de LT, prueba de LEC) que no afectan la concentración de corticosterona, nos sugiere que el sistema noradrenérgico en ambas regiones cerebrales son afectados de manera diferencial por las señales que se originan en otras regiones cerebrales en respuesta al estrés.

Los valores de la concentración de corticosterona dependieron del tipo y de la duración del estresor, los estresores severos de poca duración, pero de intensidad alta provocaron la respuesta de corticosterona más rápido que los que tuvieron mayor duración, es decir los entrenamientos. Los resultados de 15 min de restricción de movimiento y el choque (2.5 mA), coinciden con trabajos previos en ratón (Bowers et al., 2008; De Boer, Slangen & Van de Gusten, 1990; Hajós-Korcsok et al., 2003; Shimizu et al., 1994). Lo anterior confirma que el choque y la restricción de movimiento son estresores altamente agresivos que provocaron concentraciones altas de corticosterona.

Los aumentos en la concentración de corticosterona en respuesta al estrés, modifican las funciones cognitivas (McReynolds et al. 2014). Según Ferry, Roozendaal & McGaugh, 1999) y McGaugh, (2004), en los casos en que el animal estuvo expuesto a dos estresores (restricción y el choque propio de la tarea), la concentración de corticosterona aumenta durante las experiencias con carga emocional, los que activan a los mecanismos noradrenérgicos en la amígdala basolateral, lo que resulta en una mejoría en la memoria. Según Wolf, (2008), los resultados son inconsistentes ya que se ha observado mejora, falta de efecto o de deterioro de la memoria. Según la hipótesis, la activación noradrenérgica en la amígdala conduce a una mejor consolidación de la memoria a través de su interacción con el hipocampo (LaBar & Cabeza, 2006) y la CPF medial (Roozendaal, McEwen & Chattarji, 2009).

Los resultados de los sujetos que fueron sometidos al entrenamiento en LT y LEC en donde la corticosterona no se vio afectada, fueron similares a los de Van der Borght et al., (2005) cuando exponen a los sujetos a una caja de evitación activa con un choque de 0.3 mA. Se propone que la respuesta cortico-adrenal a estímulos estresantes puede ser considerada como un índice sensible a la intensidad del estrés y de la experiencia emocional del animal, cuando se utilizan estresores de baja y mediana intensidad (Armario, Montero & Balasch, 1986).

En las ratas que primeramente fueron sometidas a 15 min de restricción de movimiento y ejecutaron la tarea de evitación inhibitoria 24 h después, la concentración de corticosterona fue mayor respecto a todos los grupos (Figura 20), se ha documentado que el estrés tiene el potencial de alterar a los receptores a glucocorticoides mediados por procesos fisiológicos y hasta 24 h después de la desaparición del factor estresante (Deak, Nguyen, Crystal, Cotter & Fleshner, 1999; Klenérova et al, 2003; Malisch, Satterlee, Cockrem, Wada & Breuner, 2010).

La liberación de corticosterona por exposición a estrés, se reporta con frecuencia que la liberación va acompañada de cambios en la NA y la 5-HT particularmente en la CPF (Tomie et al., 2004).

14. CONCLUSIONES

1. El estrés agudo influye en la homeostasis del animal.
2. El estrés por restricción activa al sistema noradrenérgico en la CPF y en el ED, los cambios producidos pueden modular a los procesos de la memoria y de la ansiedad.
3. Los cambios dependen del tiempo transcurrido entre el estrés y las mediciones, de modificaciones en la sensibilidad al sistema noradrenérgico de la CPF y el ED y de la concentración plasmática de corticosterona.
4. El estrés por restricción causó amnesia en los sujetos que ejecutaron la tarea de LT a los diferentes tiempos después del estrés, pero no influyó en la memoria de los sujetos que ejecutaron la tarea de EI.
5. La restricción no modificó la ansiedad evaluada en el LT o LEC
6. La CPF y el ED son estructuras que intervienen en los procesos emocionales y de memoria.
7. Los aumentos en la concentración de corticosterona muestran que la R y el CH son estresores potentes.

15. REFERENCIAS

- Adamec, R., Toth, M., Haller, J., Halasz, J. & Blundell, J. (2012). A comparison of activation patterns of cells in selected prefrontal cortical and amygdala areas of rats which are more or less anxious in response to predator exposure or submersion stress. *Physiology & Behavior*, *105*, 628–638.
- Algeri, M. S., Calderini, G., Lomuscio, G., Rocchetti, M., Sacchetti, G., Toffano, G. & Ponzio, F. (1988). Differential response to immobilization stress of striatal dopaminergic and hippocampal noradrenergic systems in aged rats. *Neurobiology of Aging*, *9*, 213-216.
- Ammassari-Teule, M., Pavone, F., Castellano, C. & McGaugh J. L. (1991). Amygdala and dorsal lesions block the effects of GABAergic drugs on memory storage. *Brain Research*, *551*, 104-109.
- Andreson, J. R. (2001). *Aprendizaje y memoria*. México: McGraw Hill.
- Antoniadis, E. A. & McDonald, R. J. (2006). Fornix, medial prefrontal cortex, and mediodorsal thalamic nucleus: Roles in a fear-based context discrimination task. *Neurobiology of Learning and Memory*, *85*, 71-85.
- Ardila, R. (1974). *Psicología del Aprendizaje*. México Siglo veintiuno.
- Armario, A., Montero, J. L. & Balasch, J. (1986). Sensitivity of corticosterone and some metabolic variables to graded levels of low intensity stresses in adult male rats. *Physiology & Behavior*, *37*, 559-561.
- Arnsten, A. F. T. (2009) Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Natural Reviews of Neuroscience*, *10*(6), 410–422.
- Arnsten, A. F. T. (2011). Catecholamine influences on dorsolateral prefrontal cortical. *Networks. Biology Psychiatric*, *69*(12), 89-99.
- Aston-Jones, G. & Cohen, J. D.(2005). Adaptive gain and the role of the locus coeruleus-norepinephrine system in optimal performance. *Journal Comparative Neurology*, *493*(1), 99-110.
- Ayala, M. E., Monroy, J., Morales, L., Castro, M. E. & Domínguez, R. (1998). Effects of a lesion in the dorsal raphe nuclei performed during the juvenile period of the female rat, on puberty. *Brain Research Bulletin*, *47*, 211–8.
- Baddeley, A. (1994). Las memorias humanas. *Mundo Científico*, *150*, 802-807.
- Bailey, K. R. & Mair, R. G. (2004). Dissociable effects of frontal cortical lesions on measures of visuospatial attention and spatial working memory in the rat. *Cerebral Cortex*, *14*, 974-985.
- Ballesteros, S., Reales, J. M. & Manga, D. (1999). Memoria implícita y memoria explícita intramodal e intermodal: influencia de las modalidades elegidas y del tipo de estímulos. *Psicothema*, *11*(4), 831-851.
- Bammer, G. (1982). Pharmacological of neurotransmitter involvement in passive avoidance responding: a review and some new results. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, *6*, 247-296.
- Bargas, J. & Galarraga, E. (2000). La acción neuromoduladora de la dopamina sobre los ganglios basales. *Ciencia al Día Internacional*, *2*(3), 1-18.
- Bargas, J., Galarraga, E., & Aceves, J. (1991). Dendritic activity on neostri- atal neurons as inferred from somatic intracellular recordings. *Neuron*, *42*, 653–663.

- Barker, L. A., Glick, S. U., Green, J. P. & Kandelwal, J. (1982). Acetylcholine metabolism in the rat hippocampus and striatum following one-trial passive training. *Neuropharmacology*, *21*, 183-185.
- Becker, A. & Grecksch, G. (1996). Illumination has no effect on rat's behavior in the elevated plus-maze. *Physiology & Behavior*, *59*(6), 1175-1177.
- Belanoff, J. K., Gross, K., Yager, A. & Schatzberg, A. F. (2001). Corticosteroids and cognition. *Journal of Psychiatric Research*, *35*, 127-145.
- Belzung, C. & Griebel, G. (2001). Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behavioural Brain Research*, *125*, 141-149.
- Berke, J. D. (2009). *Procedural Learning: Striatum*. Elsevier Ltd.
- Bermudez-Rattoni, F. (2014). The forgotten insular cortex: Its role on recognition memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, *109*, 207-216.
- Berridge, C. W. & Waterhouse, B. D. (2003). The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Research Reviews*, *42*, 33-84.
- Bert, B., Fink, H., Huston, J. P. & Voits, M. (2002). Fischer 344 and Wistar Rats differ in anxiety and habituation but in water maze performance. *Neurobiology of Learning and Memory*, *78*, 11-22.
- Bolam, J. P. & Izzo, P. N. (1987). Possible sites of transmitter. Interaction in the neostriatum: an anatomical approach. En: *Neurotransmitter Interactions in the Basal Ganglia*. New York: Raven Press.
- Botreau, F., El Massioui, N., Chéruef, F. & Gisquet-Verrier, P. (2004). Effects of medial prefrontal cortex and dorsal striatum lesions on retrieval processes in rats. *Neuroscience*, *129*, 539-553.
- Bowers, S. L., Bilbo, S. D. Dhabhar, F. S. & Nelson, R. J. (2008). Stressor-specific alterations in corticosterone and immune responses in mice. *Brain Behavior Immunology*, *22*(1), 105-113.
- Bowman, R. E., Beck, K. D. & Luine, V. N. (2003). Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity. *Hormones and Behavior*, *43*, 48-59.
- Bremner, J. D., Kristal, J. H., Southwick, S. M & Charney, D. S. (1996). Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. *Synapse*, *23*, 28-38.
- Browning, P. G. F., Easton, A., Buckley, M. J. & Gaffan, D. (2005). The role of prefrontal cortex in object-in-place learning in monkeys. *European Journal of Neuroscience*, *22*, 3281-3291.
- Buchanan, T. W. (2007). Retrieval of emotional memories. *Psychological Bulletin*, *133*(5), 761-779.
- Bylund, D. B., Blaxall, H. S., Iversen, L. J., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J. & Lomasney, J. W. (1992). Pharmacological characteristics of α 2-adrenergic receptors: Comparison of pharmacologically defined subtypes with subtypes identified by molecular cloning. *Molecular Pharmacology*, *42*, 1-5
- Cahill, L., Pham, C. A. & Setlow, B. (2000). Impaired memory consolidation in rats produced with b-adrenergic blockade. *Neurobiology of Learning and Memory*, *74*, 259-266.
- Calatayud, F., C. Belzung, C. & Aubert, A. (2004). Ethological validation and the assessment of anxiety-like behaviours: methodological comparison of classical analyses and structural approaches. *Behavioural Processes*, *67*, 195-206.

- Campos, A. C., Manoela V. Fogaça, M. V., Aguiar, D. C. & Guimaraes, F. S. (2013). Animal models of anxiety disorders and stress. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 35(2), 101-111.
- Carrasco, G. A. & Van de Kar, L. D. (2003). Neuroendocrine pharmacology of stress. *European Journal of Pharmacology*, 463, 235-272.
- Carvahlo-Netto, E. F & Nunes-de-Souza, R. L. (2004). Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice. *Behavioral Brain Research*, 148, 119-132.
- Celada, P., Puig, M. V. & Artigas, F. (2013). Serotonin modulation of cortical neurons and networks. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7(25), 1-20.
- Chauveau, F., Piérard, C., Tronche, C., Coutan, M., Drouet, I., Liscia, P. & Béracochéa, D. (2009). The hippocampus and prefrontal cortex are differentially involved in serial memory retrieval in non-stress and stress conditions. *Neurobiology of Learning and Memory*, 91, 447-455.
- Chida, Y., Sudo, N., Mori, J. & Kubo, Ch. (2006). Social isolation stress impairs passive avoidance learning in senescence-accelerated mouse (SAM). *Brain Research*, 1067, 201-208.
- Chotiwat, C. & Harris, R. B. S. (2006). Increased anxiety-like behavior during the post-stress period in mice exposed to repeated restraint stress. *Hormonal & Behavior*, 50, 489-495.
- Chrousos, G. F. (2007). Organization and Integration of the Endocrine System. *Sleep Medicine Clinics*, 2(2), 125-145.
- Clement, Y. & Chapouthier, G. (1998). Biological bases of anxiety. *Neuroscience Behavioural Reviews*, 22, 623-633.
- Colombo, P. J. & Gold, P. E. (2004). Multiple memory systems. Editor's Note. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 169-170.
- Conde, C. A., Costa, V. & Tomaz, C. (1999). Measuring emotional memory in the elevated T-maze using a training-to-criterion procedure. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 63, 63-69.
- Conrad, C. D., Jackson, J. M., Wiecek, L., Baran, S. E., Harman, J. S., Wright, R. L. & Korol, D. L. (2004). Acute stress impairs spatial memory in male but not female rats: influence of estrous cycle. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(3), 569-579.
- Costa, R., Tamascia, M.L., Nogueira, M. D., Casarini, D. E. & Marcondes, F. K. (2012). Handling of adolescent rats improves learning and memory and decreases anxiety. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 51(5), 548-553.
- Courtin, J., Bienvenu, T.C.M., Einarsson, E.O. & Herry, C. (2013). Neuroscience Forefront Review. Medial prefrontal cortex neuronal circuits in fear behavior. *Neuroscience*, 240, 219-242.
- Croiset, G., Nijssen, M. J. M. A., & Kamphuis, P. J. G. H. (2000). Role of corticotropin-releasing factor, vasopressin and the autonomic nervous system in learning and memory. *European Journal of Pharmacology*, 405, 225-234.
- Cruz, A. P. M., Frei, F. & Graeff, F. G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 49, 171-176.
- Cruz-Morales, S. E., Durán-Arevalo, M., Díaz Del Guante, M. A., Quirarte, G. & Prado-Alcalá, R. A. (1992). A threshold for the protective effect of over-reinforced

- passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Behavioral and Neural Biology*, 57, 256-259.
- Cruz-Morales, S. E., García-Saldívar, N. L., González-López, M. R., Castillo-Roberto, G., Monroy, J. & Domínguez, R. (2008). Acute restriction impairs memory in the elevated T-maze (ETM) and modifies serotonergic activity in the dorsolateral striatum. *Behavioural Brain Research*, 195, 187–191.
- Cruz-Morales, S. E., González-López, M. R., Gómez-Romero, J. G., & Arriaga-Ramírez, P. (2003). Modelos de ansiedad. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 29, 93-105.
- Custódio, T. R., Zangrossi, H. & Graeff, F. G. (2000). Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T-maze model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65(4), 571-576.
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N. & Robbin, T. W. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28, 771-784.
- Das, A., Rai, D., Dikshit, M., Palit, G. & Nath C. T. (2005). Nature of stress: Differential effects on brain acetylcholinesterase activity and memory in rats. *Life Sciences*, 77, 2299–2311.
- Davis, M. (2006). Neural systems involved in fear and anxiety measured with fearpotentiated startle. *American Psychologist*, 61(7), 741–756.
- De Boer, S. F., Slangen, J. L. & Van de Gugten, J. (1990). Plasma catecholamine and corticosterone levels during active and passive shock-prod avoidance behavior in rats: Effects of chlordiazepoxide. *Physiology & Behavior*, 47(6), 1089-1098.
- De La Garza, R., M. & Mahoney, J. J. (2004). A distinct neurochemical profile in WKY rats at baseline and in response to acute stress: implications for animal models of anxiety and depression. *Brain Research*, 1021, 209-218.
- Deak, T., Nguyen, K. T., Crystal, S., Cotter, C. S. & Fleshner, M. (1999). Long-term changes in mineralocorticoid and glucocorticoid receptor occupancy following exposure to an acute stressor. *Brain Research*, 847, 211–220.
- DeFelipe, J. (2011). The evolution of the brain, the human nature of cortical circuits, and intellectual creativity. *Frontiers in Neuroanatomy*, 5, (29), 1-17.
- Devan, B. D., McDonald, R. J. & White, N. M. (1999). Effects of medial and lateral caudate-putamen lesion on place- and cue-guided behaviors in the water: relation to thigmotaxis. *Behavioural Brain Research*, 100, 5-14.
- Di Pietro, N. C., Black, Y. D., Green-Jordan, K., Eichenbaum, H. B. & Kantak, K. M. (2004). Complementary tasks to measure working memory in distinct prefrontal cortex subregions in rats. *Behavioral Neuroscience*, 118(5), 1042-1051.
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Four Edition (DSM IV). Recuperado de <http://allpsych.com/disordes/dsm.html>.
- Diamond, D. M., Campbell, A. M., Park, C. R., Woodson, J.C., Conrad, C. D., Bachstetter, A. D. & Mervis, R. F. (2006). Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus*, 16, 571-576.
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*. 55, 51–86

- Eichenbaum, H. (1997). Declarative memory: Insights from cognitive neurobiology. *Annual Reviews Psychology*, 48, 547-572.
- Eichenbaum, H., Schoenbaum, G., Young, B. & Bunsey, M. (1996). Functional organization of the hippocampal memory system. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 93, 13500-13507.
- Fernández-Pastor, B. & J. Javier Meana, J. J. (2002). In vivo tonic modulation of the noradrenaline release in the rat cortex by locus coeruleus somatodendritic alpha2-adrenoceptors. *European Journal of Pharmacology*, 442, 225–229.
- Ferry, B., Roozendaal, B. & McGaugh, J. L. (1999). Role of norepinephrine in mediating stress hormone regulation of long-term memory storage: a critical involvement of the amygdala. *Biological Psychiatry*, 46(9), 1140-52.
- File, S. E. (1987). The contribution of behavioural studies to the neuropharmacology of anxiety. *Neuropharmacology*, 26, (IB), 877-886,
- Finlay, J. M., Zigmond, M. J. & Abercrombie, E. D. (1995). Release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: effects of diazepam. *Neuroscience*, 64(3), 619-628.
- Fuster, J. M. (1988). *The prefrontal cortex*. USA. Library of Congress Cataloging-in Publications Data.
- García-Saldívar, N. L. & Cruz-Morales S. E. (2000). Efecto de drogas GABAérgicas sobre la consolidación de la memoria en condiciones de bajo reforzamiento. En: Mancilla, D. J. M. & Vilaclara, F. G. (Comp). *Cuaderno de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias*. 2(89-104). México: UNAM.
- Gasbarri, A., Pompili, A., Packard, M. G. & Tomaz, C. (2014). Habit learning and memory in mammals: Behavioral and neural characteristics. *Neurobiology of Learning and Memory*, 114, 198–208.
- Gerfen, C. R. (1989). The neostriatal systems. Striatal match-matrix organization is related to cortical lamination. *Science*, 246, 385-388.
- Gerfen, C. R. & Surmeier, D. J. (2011). Modulation of striatal projection systems by dopamine. *Annual Review Neuroscience*, 34, 441–466.
- Gibbs, M. E. & Summers, R. J. (2002). Role of adrenoceptor subtypes in memory consolidation. *Progress in Neurobiology*, 67, 345-391.
- Glavin, G. B. (1983). Regional rat brain noradrenaline turnover in response to restraint stress. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 19, 287-290.
- Glavin, G. B. (1985). Stress and Brain noradrenaline: A review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 9, 233-243.
- Glavin, G. B. (1986). Restraint stress in biomedical research: A review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 10, 339-370.
- Glavin, G. B., Paré, W. P., Sandbak, T., Bakker, H. K. & Murison, R. (1994). Restraint stress in biomedical research: An update. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 18, 223-249.
- Gold, P. E. (1986). The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. *Behavioral and Neural Biology*, 46(1), 87-98.
- Gold, P. E. (2004). Coordination of multiple memory systems. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82, 230–242.
- Goldstein, D. S. & McEwen, B. (2002). Allostasis, homeostats, and the nature of stress. *Stress*, 5(1), 55-8.

- González-López, M. R. A. (2005). *Efecto de agonistas y antagonistas GABAB en la amnesia inducida por escopolamina*. (Tesis de Maestría). FES Iztacala UNAM, México.
- Govoni, S. (2009). *Monoamines*. Elsevier Ltd
- Graeff, F. G., Netto, C. F. & Zangrossi, H. Jr. (1998). The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *23*, 237-246.
- Griebel, G., Moreau, J. L., Jenck, F., Martin, J. R. & Misslin, R. (1993). Some critical determinants of the behavior of rats in the elevated-plus maze. *Behavioral Process*, *29*, 37-48.
- Groenewegen, H. J. & Uylings, H. B. M. (2000). Organization of Prefrontal-Striatal Connections. *Handbook of Basal Ganglia Structure and Function*. Cap. 20. 353-365.
- Gunnar, M. & Quevedo, K. (2007). The neurobiology of stress and development. *Annual Reviews Psychology*, *58*, 145-173.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. (1997). *Tratado de fisiología médica* (pp. 773-823) 9ª Ed. Nueva York: Interamericana. McGraw-Hill.
- Hajós-Koresok, E., Robinson, D. D., Yu, J. H., Fith, C. S., Walker, E., & Merchant, K. M. (2003) Rapid habituation of hippocampal serotonin and norepinephrine release and anxiety-related behaviors, but not plasma corticosterone levels, to repeated footshock stress in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *74*, 609-616.
- Hannesson, D. K., Vacca, G., Howland, J. G. & Phillips, A. G. (2004). Medial prefrontal cortex is involved in spatial temporal order memory but not spatial recognition memory in tests relying on spontaneous exploration in rat. *Behavioural Brain Research*, *153*, 273-285.
- Hauber, G. G., Hauber, G. P., da Silva, A. A., Ferrinho, P. L., Trevisani, A. M., Klein, M. F. & Ferraz de Arruda, V. M. C. (2006). Nociception- and anxiety-like behavior in rats submitted to different periods of restraint stress. *Physiology & Behavior*, *87*, 643-649.
- Heidbreder, C. A. & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *27*, 555-579.
- Heimer, L., Zahm, D. S. & Alheid, G. F. (1995) Basal Ganglia. En Paxinos, G. (Ed.), *The Rat Nervous System*, (579-418). The New York: Academic Press.
- Heinsbroek, R. P. W., Van Haaren, F., Feenstra, M. G. P., Boon, P. & Van de Poll, N. E. (1991). Controllable and uncontrollable footshock and monoaminergic activity in the frontal cortex of male and female rats. *Brain Research*, *551*, 247-255.
- Hilgard, R. E. & Bower, H. G. (1989). *Teorías del Aprendizaje*. 2a Ed. México: Trillas.
- Ho, Y., Eichendorff, J. & Schwarting, R. K. W. (2002). Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression. *Behavioural Brain Research*, *136*, 1-12.
- Hogg, S. (1996). A Review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *54*, 21-30.

- Holmes, A. & Wellman, C. L. (2009). Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 33(6), 773–783.
- Hoscheidt, S. M., LaBar, K. S., Ryan, L., Jacobs, W. J. & Nadel, L. (2014). Encoding negative events under stress: High subjective arousal is related to accurate emotional memory despite misinformation exposure. *Neurobiology of Learning and Memory*, 112, 237–247
- Hu, L., Sun, Y., Ding, Z., Zhang, Y., Wu, J., Lian, H. & Wang, T. (2014). A new stress model, a scream sound, alters learning and monoamine levels in rat brain. *Physiology & Behavior*, 123, 105–113.
- Iimori, K., Tanaka, M., Kohno, Y., Ida, Y., Nakagawa, Y., Hoaki, Y., Tsuda, A. & Nagasaki, N. (1982). Psychological stress enhances noradrenaline turnover in specific brain regions in rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 16, 637-640.
- Joels, M., Pu, Z., Wiegert, O., Oitzl, M. S. & Krugers, H. J. (2006). Learning under stress: how does it work? *Trends in Cognitive Science*, 10(4), 152-158.
- Jones, N., Duxon, M. S. & King, S. M. (2002). Ethopharmacological analysis of the unstable elevated exposed plus maze, a novel model of extreme anxiety: predictive validity and sensitivity to anxiogenic agents. *Psychopharmacology*, 161,314-323.
- Kádár, E., Ramoneda, M., Aldavert-Vera, L., Huguet, G., Morgado-Bernal, I. & Segura-Torres, P. (2014). Rewarding brain stimulation reverses the disruptive effect of amygdala damage on emotional learning. *Behavioural Brain Research*, 274, 43–52.
- Kalueff, A.V. (2007). Neurobiology of memory and anxiety: From genes to behavior. *Neural Plasticity*, 2007,1-12.
- Kandel, E., Jessell, T. & Schwartz, J. (1996). *Neurociencia y conducta*. México: Prenticed Hall.
- Kaneto, H. (1997). Learning/memory processes under stress conditions. *Behavioural Brain Research*, 83, 71-74.
- Kawahara, H., Kawahara, Y. & Westernik, B. H. C. (2001). The noradrenaline-dopamine interaction in the rat medial prefrontal cortex studied by multi-probe microdialysis. *European Journal of Pharmacology*, 418(3), 177-186.
- Keeley, R. J., Bye, C., Trow, J. & McDonald R. J. (2014). Strain and sex differences in brain and behaviour of adult rats: learning and memory, anxiety and volumetric estimates. *Brain Research Bulletin*, 288, 118-131.
- Kent, J. M., Mathew, S. J. & Gorman, J. M. (2002). Molecular targets in the treatment of anxiety. *Society of Biological Psychiatry*, 52, 1008-1030.
- Khakpour-Taleghani, B., Lashgari, R., Motamedia, F. & Naghdi, N. (2009). Effect of reversible inactivation of locus ceruleus on spatial reference and working memory. *Neuroscience*, 158, 1284–1291.
- Klein, S. B. (1995). *Aprendizaje: Principios y aplicaciones*. 2ª Ed. México McGraw Hill.
- Klenéřova, V., Jucovicoba, J., Kaminsky, O., Sida, P., Krejei, I., Hiliřak, Z. & Hyne, S. (2003). Combined restraint and cold stress in rats: effects on memory processing in passive avoidance task and on plasma levels of ACTH and corticosterone. *Behavioural Brain Research*, 142, 143-149.

- Konstandi, M., Johnson, E., Lang, M. & Marselos, M. (2000). Noradrenaline, dopamine, serotonin: different effects of psychological stress on brain biogenic amines in mice and rats. *Pharmacology Research*, 41(3), 341-346.
- Korte, S. M. & De Boer, S. F. (2003). A robust animal model of anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *European Journal of Pharmacology*, 463, 163-175.
- Kreitzer, A. C. (2009). Physiology and Pharmacology of Striatal Neurons. *Annual Review of Neuroscience*, 32, 127-147.
- LaBar, K. S. & Cabeza, R. (2006). Cognitive neuroscience of emotional memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 7, 54-64.
- Laverty, R. (1975). On the roles of dopamine and noradrenaline in animal behavior. *Progress in Neurobiology*, 3, 33-73.
- Levin, E. D. (2006). The rationale for studying transmitter interactions to understand the neural bases of cognitive function. En: Levin, E. D. (Edit) *Neurotransmitter Interactions and Cognitive Function*. Berlin. Birkhauser. pp1-3.
- Liang, K. C. (1998). Pretraining infusion of DSP-4 into amygdale impaired retention in the inhibitory avoidance task: involvement of norpinprhine but not serotonin in memory facilitation. *China Journal of Physiology*, 38, 81-90.
- Lister, R.G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*, 92(2), 180-185.
- Lu, L., Shepard, J. D., Hall, F. S. & Shaham, Y. (2003). Effect of environmental stressors on opiate and psychoestimulant reinforcement, reinstatement and discrimination in rats: a review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27, 457-491.
- Lupien, S. J. & Lepage, M. (2001). Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it. *Behavioural Brain Research*, 127, 137-158.
- Malisch, J. L., Satterlee, D. G., Cockrem, J. F., Wada, H. & Breuner, C. W. (2010). How acute is the acute stress response? Baseline corticosterone and corticosteroid-binding globulin levels change 24 h after an acute stressor in Japanese quail. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 345-350.
- Marien, M. R., Colpaert, F. C. & Rosenqui, A. C. (2004). Noradrenérgic mechanisms in neurodegenerative diseases: a theory. *Brain Research Reviews*, 45, 38-78.
- Martijena, I. D., Calvo, N., Volosin, M. & Molina, V. A. (1997). Prior exposure a brief restraint session facilitates the occurrence of fear in response to a conflict situation: behavioral and neurochemical correlates. *Brain Research*, 752, 136-142.
- Martíni, L., Nello, L. R., Cinotti, S., Fini, M., Giavaresi, G. & Giardino, R. (2000). Evaluation of pain and stress levels of animals used in experimental Research. *Journal of Surgical Research*, 88, 114-119.
- McDevitt, R. A., Szot, P., Baratta, M. V., Bland, S. T., White, S. S., Maier, S. F. & Neumaier, J. F. (2009). Stress-induced activity in the locus coeruleus is not sensitive to stressor controllability. *Brain Research*, 1285, 109-118.
- McDonald, R. J. & White, N. M. (1994). Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*, 61, 260-270.

- McEwen, B. S. & Gianaros, P. J. (2010). Central role of the brain in stress and adaptation: Links to socioeconomic status, health, and disease. *Annual New York Academic Science*, 1186, 190–222.
- McEwen, B. S. & Morrison, J. H. (2013). The Brain on Stress: Vulnerability and Plasticity of the Prefrontal Cortex over the Life Course. *Neuron*, 79, 16-29.
- McGaugh, J. L. (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 1-28.
- McGaugh, J. L., McIntyre, C. K. & Power, A. E. (2002). Amygdala modulation of memory consolidation: Interaction with other brain systems. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78, 539-552.
- McGugh, J. L., Cahill, L. & Roozental, B. (1996). Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with others brain systems. *Proceedings of the National Academy of Science USA*. 93, 13508-13514.
- McIntyre, C. K., Hatfield, T. & McGaugh, J. L. (2002). Amygdala norepinephrine levels after training predict inhibitory avoidance retention performance in rats. *European Journal of Neuroscience*, 16, 1223-1226.
- McReynolds, J. R., Holloway-Erickson, C.M., Parmar, T. U. & McIntyre, C. K. (2014). Corticosterone-induced enhancement of memory and synaptic Arc protein in the medial prefrontal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory* 112, 148–157
- Mercier, S., Canini, F., Buguet, A., Cespuglio, R., Martin, S. & Bourdon, L. (2003). Behavioural changes after an acute stress: stressor and test types influences. *Behavioural Brain Research*, 139, 167-175.
- Millan, M. J. (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology*, 70, 83-244.
- Miller, E. K. & Cohen, J. D. (2001). An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual Review Neuroscience*, 24, 167–202.
- Miner, L.A.H. & Sesack, S.R. (2007). Anatomical characteristics of norepinephrine axons in the prefrontal cortex: unexpected findings that may indicate low activity state in naïve animals. En: Tseng, K.Y. & Atorzi, M. (Eds.). *Monoaminergic Modulation of Cortical Excitability* (pp. 35–65). Springer, New York, NY.
- Miura, H., Qiao, H. & Ohta, T. (2002). Attenuating effects of the isolated rearing condition on increased brain serotonin and dopamine turnover elicited by novelty stress. *Brain Research*, 926, 10–17.
- Mizoguchi, K., Ishige, A., Takeda, S., Aburuda, M. & Tabira, T. (2004). Endogenous glucocorticoids are essential for maintaining prefrontal cortical cognitive function. *The Journal of Neuroscienc*, 24(24), 5492-5499.
- Mora, F., Segovia, G., del Arco, A, de Blas, M. & Garrido, P. (2012). Stress, neurotransmitters, corticosterone and body–brain integration. *Brain Research*, 1476, 71–85.
- Morgane, P. J., Galler, J. R. & Mokler, D. J. (2005). A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Progress in Neurobiology*, 75, 143-160.
- Morrow, B. A., George, T. P. & Roth, R. H. (2004). Noradrenergic α -2 agonists have anxiolytic-like actions on stress-related behavior and mesoprefrontal dopamine biochemistry. *Brain Research*, 1027, 173-178.

- Nakagawa, R., Tanaka, M., Kohno, Y., Noda, Y. & Nagasaki, N. (1981). Regional responses of rat brain noradrenergic neurons to acute intense stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *14*, 729-732.
- Nakane, H., Shimizu, N. & Hori, T. (1994). Stress-induced norepinephrine release in the rat prefrontal cortex measured by microdialysis. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*, *267*, 1559-1566.
- Netter, F. H. & Brass, A. (1994) *Sistema Nervioso: Anatomía y Fisiología*, (760). Barcelona: Plaza.
- Ojeda, J. L. & Icardo, De la E. J. M. (2004). Neuroanatomía Humana: Aspectos funcionales y clínicos. Barcelona Ed. Masson p.324.
- Osuch, E., Ursano, R., Li, H., Webster, M., Hough, Ch., Fullerton, C. & Leskin, G. (2004). Brain environment interactions: Stress, posttraumatic stress disorder, and the need for a postmortem brain collection. *Psychiatry*, *67*(4), 353-383.
- Pacák, K. & Palkovits, M. (2001). Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine Review*, *22*(4), 502-548.
- Packard, M. G. (2009a). Procedural learning in animals. *Encyclopedia of Neuroscience*, *2009*, 1077-1081.
- Packard, M. G. (2009b). Anxiety, cognition, and habit: A multiple memory systems perspective. *Brain Research*, *1293*, 121-128.
- Packard, M. G. & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review Neuroscience*, *25*, 563-593.
- Packard, M. G. & McGaugh, J. L. (1996). Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, *65*, 65-72.
- Packard, M. G. & Wingard, J. C. (2004). Amygdala and “emotional” modulation of the relative use of multiple memory systems. *Neurobiology Learning and Memory*, *82*, 243-252.
- Packard, M. G., Introini-Collison, I. & McGaugh, J. L. (1996). Stria terminalis lesions attenuate memory enhancement produced by intra-caudate nucleus injections of oxotremorine. *Neurobiology Learning and Memory*, *65*, 278-282.
- Packard, M. G., Vecchioli, S. F., Schroeder, J. P. & Gasbarri, A. (2001). Task-dependent role for dorsal striatum metabotropic glutamate receptors in memory. *Learning and Memory*, *8*, 96-103.
- Paré, W. P. & Glavin, G. B. (1986). Restraint stress in biomedical research: A review. *Neuroscience & Biobehavioral Review*, *10*, 339-370.
- Park, C. R., Campbell, A. M., Woodson, J. C., Smith, T. P., Fleshner, M. & Diamond, D. M. (2006). Permissive influence of stress in the expression of a u-shaped relationship between serum corticosterone levels and spatial memory errors in rats. *Dose-Response*, *4*, 55-74.
- Pasupathy, A. & Millan, E. K. (2005). Different time courses of learning-related activity in the prefrontal cortex and striatum. *Nature*, *433*, 873-875.
- Paxinos, G. (2004). *The rat nervous system*. New York. Academic press.
- Pellow, S., Copin, P., File, S. E. & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, *14*, 149-167.

- Petkov, V. V., Stoyanova, V. & Popova, Y. (1989). Changes in the serotonin, dopamine and noradrenaline levels in the cerebral cortex of rats trained for active and passive avoidance. *Acta Physiological Pharmacology of Bulg*, 15(2), 28-32.
- Prado-Alcalá, R. & Quirarte, G. L. (2007). The consolidation of memory, one century on. *Revista de Neurología*, 45(5), 284-292.
- Prado-Alcalá, R. A., Maldonado, M. M. G. & Vázquez-Nin, G. H. (1979). Caudate nucleus lesions and passive avoidance: a quantitative study. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos, Mex.* 30, 211-215.
- Pudovkina, O. L., Kawahara, Y., Vries, J. D. & Westernik, B. H. C. (2001). The release of noradrenaline in the locus coeruleus and prefrontal cortex studied with dual-probe microdialysis. *Brain Research*, 906, 38-45.
- Quirarte, G. L., Cruz-Morales, S. E., Díaz Del Guante, M. A., García, M., & Prado-Alcalá. (1993). Protective effect of under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Brain Research Bulletin*, 32, 521-524.
- Rachlin, H. (1986). *Introducción al conductismo moderno*. México Debate.
- Rage, F., Givalois, L., Marimigere, F., Tapia-Arancibia, L. & Arancibia, S. (2002). Immobilization stress rapidly modulates BDNF mRNA expression in the hypothalamus of adult male rats. *Neuroscience*, 2, 309-318.
- Ramos, A. & Mormède, P. (1998). Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 22(1), 33-57.
- Rashidy-Pour, A., Sedeghi, H., Taherain, A. A., Vafaei, A. A. & Fathollahi, Y. (2004). The effects of acute restraint stress and dexamethasone on retrieval of long-term memory in rats: an interaction with opiate system. *Behavioural Brain Research*, 154, 193-199.
- Reynolds, G. S. (1973). *Compendio de condicionamiento operante*. México, Ciencia de la Conducta.
- Ressler, K. J. & Nemeroff, C. B. (1999). Role of norepinephrine in the pathology and treatment of mood disorders. *Biological Psychiatry*, 46, 1219-1233.
- Rioja, J., Santini, L. J., López-Barroso, D., Doña, A., Ulzurrum, E. & Aguirre, J. A. (2007). 5-HT receptor activation counteracted the effect of acute immobilization of noradrenergic neurons in the rat locus coeruleus. *Neuroscience Letters*, 412, 84-88.
- Roosendaal, B. (2002). Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78, 578-595.
- Roosendaal, B. & McGaugh, J. (2011). Memory modulation. *Behavioral Neuroscience*, 125(6), 797-824.
- Roosendaal, B., McEwen, B. S. & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Neuroscience*, 10, 423-433.
- Roosendaal, B., Okuda, S., Quervain, D. J. F. & McGaugh, J. L. (2006). Glucocorticoids interact with emotion-induced noradrenergic activation in influencing different memory functions. *Neuroscience*, 138(3), 901-910.
- Rossetti, Z. L., Portas, C., Pani, L., Carboni, S. & Gessa, G. L. (1990). Stress increases noradrenaline release in the rat frontal cortex: prevention by diazepam. *European Journal of Pharmacology*, 176, 229-231.
- Rusnák, M., Kvetňanský, R., Jeloková, J. & Palkovits, M. (2001). Effect of novel stressors on gene expression of tyrosine hydroxylase and monoamine

- transporters in brainstem noradrenergic neurons of long-term repeatedly immobilized rats. *Brain Research*, 899, 20–35.
- Sahgal, A., Keith, A. B., Lloyd, S., Kerwin, J. M., Perry, E. K. & Edwardson, J. A. (1990). Memory following cholinergic (NBM) and noradrenergic (DNAB) lesions made singly or disruption by scopolamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 37, 597-605.
- Sandi, C. (2003). Implicación de los glucocorticoides en la consolidación de la memoria. *Revista de Neurología*, 37 (9), 843-848
- Sandi, C. & M. Pinelo-Nava, T. (2007). Stress and memory: behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plasticity*, 2007, 1 – 20.
- Sandi, C., Woodson, J. C., Haynes, V. F., Park, C. R., Touyarot, K., López-Fernández, M. A., Venero, C. & Diamond, D. M. (2005). Acute stress-induced impairment of spatial memory is associated with decreased expression of neural cell adhesion molecule in the hippocampus and prefrontal cortex. *Biology Psychiatry*, 57, 856-864.
- Shah, A. A. & Treit, D. (2003). Excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex attenuate fear responses in the elevated-plus maze, social interactions and shock probe burying tests. *Brain Research*, 969, 183-194.
- Schultz, W., Tremblay, L. & Hollerman, J. R. (2003). Changes in behavior-related neuronal activity in the striatum during learning. *Trends in Neurosciences*, 26 (6), 321-328.
- Shors, T. J. (2001). Acute stress rapidly and persistently enhances memory formation in the male rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 75, 10-29.
- Shors, T. J. (2004). Learning during stressful times. *Learning and Memory*, 11(2), 137–144.
- Shors, T. J. & Horvath, B. Stress, neural basis of anxiety and fear. *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Science*, (2004), 15194-15198.
- Schwabe, L., Joëls, M., Roozendaal, B., Wolf, O. T. & Oitzl, M. S. (2012). Stress effects on memory: An update and integration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36, 1740–1749.
- Setlow, B. & McGaugh, J. L. (1999). Involvement of the posteroventral caudate-putamen in memory consolidation in the Morris water maze. *Neurobiology, Learning and Memory*, 71(2), 240-7.
- Shannon, N. J., Gunnet, J. W. & Moore, K. E. (1986). A comparison of biochemical indices of 5-hydroxytryptaminergic neuronal activity following electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus. *Journal of Neurochemistry*, 47(3), 958-965.
- Shimizu, T., Tanaka, M., Yokoo, H., Gondoh, Y., Mizoguchi K., Matzuguchi, N. & Tsuda, A. (1994) Differential changes in the rat brain noradrenaline turnover produced by continuous and intermittent restraint stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49(4), 905-909.
- Shin, L. M. & Liberzon, I. (2010). The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology Reviews*, 35, 169–191
- Shinba, T., Ozawa, N., Yoshii, M. & Yamamoto, K. (2010). Delayed increase of brain noradrenaline after acute footshock stress in rats. *Neurochemistry Research*, 35, 412–417.

- Singewald, N. & Philippu, A. (1998). Release of neurotransmitters in the locus coeruleus. *Progress in Neurobiology*, 56(2), 237-67.
- Smith, D. G., Davis, R. J., Gehlert, D. R. & Nomikos, G. G. (2006). Exposure to predator odor stress increases efflux of frontal cortex acetylcholine and monoamines in mice: comparisons with immobilization stress and reversal by chlorodiazepoxide. *Brain research*, 1114, 24-30.
- Souza, T. M., Vianna, M. R. M., Rodríguez, C., Quevedo, J., Moleta, B. A. & Izquierdo, I. (2000). Involvement of the medial precentral prefrontal cortex in memory consolidation for inhibitory avoidance learning in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 66, 615-622.
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82, 171-177.
- Stephens, D. N. & King, S. L. (2013). Neuropharmacology of benzodiazepines. En: *Biological Research on Addiction*, Cap. 59, pp 605-614
- Suvorov, N. F. & Shuvaev, V. T. (2004). The role of the basal ganglia in organizing behavior. *Neuroscience Behavioral Physiology*, 34(3), 229-34.
- Sweatt, J. D. (2003). The Basics of Psychological Learning and Memory Theory. En: Sweatt, J. D. (Ed.), *Mechanisms of Memory*, Elsevier Academic Press,
- Tanaka, T., Yokoo, H., Mizoguchi, K., Yoshida, M., Tsuda, A. & Tanaka, M. (1991). Noradrenaline release in the rat amygdale is increased by stress: studies with intracerebral microdialysis. *Brain Research*, 544, 174-176.
- Tomie, A., Tirado, A. D., Yu, L. & Pohorecky, L. A. (2004). Pavlovian autoshaping procedures increase corticosterone and levels of norepinephrine and serotonin in prefrontal cortex in rats. *Behavioural Brain Research*, 153, 97-105.
- Treit, D. (1985). Animal Models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neuroscience & Biobehavioural Reviews*, 9, 203-222.
- Trivedi, M. A. & Coover, G. D. (2004). Lesions of the ventral hippocampus, but not in the dorsal hippocampus, impair conditioned fear expression and inhibitory avoidance on the elevated T-maze. *Neurobiology of Learning and Memory*, 81, 172-18.
- Uylings, H. B. M., Groenewen, H. J. & Kolob, B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, 146, 3-17.
- Valadez, J. R. (2006). *Neuroanatomía Funcional*. (pp 305-316). México. Ediciones de Neurociencias.
- Valentino, R. J. & Van Bockstaele, E. (2008). Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress. *European Journal of Pharmacology*, 583, 194-203.
- Van der Borght, K., Meerlo, P., Luiten, P. G. M., Eggen, B. J. L. & Van der Zee, E. A. (2005). Effects of active shock avoidance learning on hippocampal neurogenesis and plasma levels of corticosterone. *Behavioral Brain Research*, 157, 23-30.
- Ventura, R., Latagliata, E. C., Morrone, C., La Mela, I. & Puglisi-Allegra, S. (2008). Prefrontal Norepinephrine Determines Attribution of „High“ Motivational Salience. *PLoS ONE* 3(8): e3044. doi:10.1371/journal.pone.000304
- Viana, M. B., Tomaz, C. & Graeff, F. G. (1994). The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49(3), 549-554.

- von Bohlen, O. und H. & Dermietzel, R. (2006). Neurotransmitters and neuromodulators. Handbook of Receptors and Biological Effects. Germany, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Wall, P.M. & Messier, C. (2001). Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 25, 275-286.
- Watt, M. J., Burke, A. R., Renner, K. J. & Forster, G. L. (2009). Adolescent male rats exposed to social defeat exhibit altered anxiety behavior and limbic monoamines as adults. *Behavioral Neuroscience*, 123 (3), 564–576
- Weiss, S. J. (2007). Neurobiological alterations with traumatic stress. *Perspectives in Psychiatric Care*, 43(3), 114-121.
- White, N. M. & McDonald, R. J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77, 125-184.
- Wolf, O. T. (2008). The influence of stress hormones on emotional memory: relevance for psychopathology. *Acta Psychologica*, 127, 513–531.
- Xiao-Min, L., San-Na, Y., Xi-Ting, G, Xi, X., Feng, S. & Wei-Wen, W. (2014). Juvenile stress affects anxiety-like behavior and limbic monoamines in adult rats. *Physiology & Behavior*, 135, 7–16.
- Yamada, K., Santo-Yamada, Y. & Wada, K. (2003). Stress-induced impairment avoidance learning in female neuropeptide B receptor-deficient mice. *Physiology and Behavior*, 78, 303-309.
- Yin, H. H., Knowlton, B. J. & Balleine, B. W. (2006). Inactivation of dorsolateral striatum enhances sensitivity to changes in the action-outcome contingency in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, 166,189-196.
- Zarrindast, M. R. (2006). Neurotransmitters and cognition. En: Levin, D. E. (Edit). *Neurotransmitter Interactions and Cognitive Function*. Birkhäuser Verlag/Switzerland. p.p 5-39.
- Zerbib, R & Laborit, H. (1990). Chronic stress and memory: implication of the central cholinergic system. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 36, 897-900.
- Ziegler, D. R. & Herman, J. P. (2002). Neurocircuitry of stress integration: anatomical pathways regulating the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis of the rat. *Integrative & Comparative Biology*, 42, 541–551.
- Zucker, M., Weizman, A. & Rehavi, M. (2005). Repeated swim stress leads to down-regulation of vesicular monoamine transporter 2 in rat brain nucleus accumbens and striatum. *European Neuropsychopharmacology*, 15, 199– 201.