



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**EFFECTO DE LA ESTIMULACIÓN DE
LOS RECEPTORES D2 EN LA
AMÍGDALA DE RATA SOBRE LA
CONDUCTA DE ANSIEDAD INNATA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

PSICÓLOGO

PRESENTA :

ALBERTO DEXTER HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. MIGUEL PÉREZ DE LA MORA**

**REVISOR DE TESIS:
DR. HUGO SÁNCHEZ CASTILLO**

Ciudad Universitaria, CD. MX
Agosto 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Este trabajo de tesis fue realizado bajo la dirección del Dr. Miguel Pérez de la Mora, en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM con el apoyo parcial de la Dirección General del Personal Académico (Proyectos: IN 205217), con el apoyo de CONACYT CB-2013-01-220173 y de Karolinska Institutet, Department of Neurosciences 348-2014-4396.

Beca otorgada a Alberto Dexter Hernández Hernández para la conclusión de estudios superiores por parte del proyecto de investigación “Papel del sistema dopaminérgico y sus interacciones con el sistema oxitocinérgico en la modulación amigdalina de la ansiedad” con número de registro CB-2013/220173. Número de becario 24236.

Aprender a ver es el más grande
aprendizaje de todas las artes

De Goncourt

Este trabajo está dedicado a mi hermana Yazbeth Alyn Hernández Hernández y a mis padres Alberto Hernández Rubio y Margarita Hernández Abarca. Gracias por ser mi ejemplo de voluntad y mi fuente inagotable de apoyo y cariño.

Agradezco a:

A mi familia, no tengo palabras para agradecer todo el apoyo y cariño que he recibido a lo largo de mi vida.

Al Doctor Miguel Pérez de la Mora, por abrirme las puertas del laboratorio y darme la oportunidad de aprender del camino de las neurociencias.

A la Q.F.B. Minerva Crespo Ramírez por el apoyo técnico, y la enseñanza de los métodos usados en esta tesis.

A todos mis compañeros de laboratorio, de quienes he aprendido mucho.

A mis amigos, en especial a Aidé y Mayra, tantos momentos, gracias por ser mi segunda familia. A Lobos, Sayuri, Erika, por hacer mejor mi vida en la facultad, a Iñaki gracias por tus enseñanzas amigo.

A mis sinodales, los doctores Hugo Sánchez Castillo, Octavio Garcia, Cristina Lemini y Cesar Casasola por sus observaciones, las cuales fueron de gran ayuda para mejorar este trabajo.

A la Facultad de Psicología y a la Universidad Nacional Autónoma de México, la máxima casa de estudios, a la que es un orgullo pertenecer.

Contenido

Resumen.....	1
Capítulo 1. Ansiedad	2
1.1 Descripción de la ansiedad	2
1.2 Trastornos de ansiedad.....	3
Capítulo 2. Modelos animales para el estudio de la ansiedad	5
2.1 Modelos condicionados.....	6
2.2 Modelos no condicionados.....	6
2.3. Prueba de enterramiento defensivo	8
Capítulo 3. Sustratos neuroanatómicos de la ansiedad	10
3.1. La amígdala	10
3.2. Núcleos basolaterales.....	10
3.3. Grupo cortical o superficial	11
3.4. Núcleos centromediales	11
3.5. Otros núcleos amigdalinos.....	12
3.6. La amígdala extendida	12
3.7. Conectividad amigdalina	13
3.8. Modulación amigdalina de la ansiedad	15
Capítulo 4. La neurotransmisión dopaminérgica en la amígdala.....	17
4.1. La dopamina	17
4.2. Síntesis y liberación de la dopamina	17
4.3. Sistema dopaminérgico	19
4.4. Inervación dopaminérgica de la amígdala	20
4.5. Receptores dopaminérgicos	21
4.6. Distribución de los receptores dopaminérgicos en la amígdala.....	25
4.7. Modulación dopaminérgica de la ansiedad.....	26
Capítulo 5. Planteamiento del problema, objetivo e hipótesis.....	31
5.1. Planteamiento del problema.....	31
5.2. Objetivos.....	31
5.3. Hipótesis	31
Capítulo 6. Materiales y método.....	32

6.1. Animales	32
6.2. Sustancias químicas.....	33
6.3. Cirugía estereotáxica.....	33
6.4. Microinyección	33
6.5. Pruebas conductuales	34
6.6. Prueba de enterramiento defensivo	34
6.7. Prueba de locomoción	35
6.8. Histología.....	35
6.9. Análisis estadístico.....	36
Capítulo 7. Resultados.....	37
7.1. Histología.....	37
7.2. Enterramiento defensivo	39
7.2.1. Tiempo total de enterramiento.....	39
7.2.2. Latencia de enterramiento.....	40
7.2.3. Número de aproximaciones al electrodo.....	41
7.2.4. Número total de choques.....	42
7.2.5. Reacción conductual ante los choques.....	43
7.3. Locomoción	44
Capítulo 8. Discusión	45
Capítulo 9. Conclusión.....	50
Referencias	51

Lista de abreviaturas

Eje HPA: Eje hipotálamico-hipofisiario-adrenal

LA: Núcleo lateral de la amígdala

BA: Núcleo basal de la amígdala

BLA: Complejo basolateral de la amígdala

CeA: Núcleo central de la amígdala

CeL: Núcleo centrolateral de la amígdala

CeM: Nucleo centromedial de la amígdala

MeA: Núcleo medial de la amígdala

BNST: Núcleo cama de la estría terminal

VTA: Área tegmental ventral

SN: Sustancia nigra

TH: Tirosina hidroxilasa

PKA: Proteína cinasa A

EC: Estímulo condicionado

Resumen

La amígdala es una de las estructuras cerebrales más importantes en la modulación de la ansiedad. La dopamina tiene un papel crucial en la transmisión de la información en la amígdala. Los receptores dopaminérgicos D2 se localizan en el núcleo central amigdalino, principal punto de salida de información. Este trabajo estuvo dirigido a examinar conductualmente el efecto de la estimulación de los receptores dopaminérgicos D2 en la modulación de la conducta de ansiedad en ratas macho. Para ello, se realizó una curva dosis-respuesta administrando concentraciones crecientes de quinpirol, un agonista de receptores D2, en el núcleo central de la amígdala. La conducta fué evaluada usando la prueba de enterramiento defensivo, la cual es un modelo de ansiedad no condicionada. La microinfusión de quinpirol a dosis de 0.3 µg/lado provocó un decremento del tiempo de enterramiento en comparación con el grupo tratado con solución salina fisiológica como vehiculo, lo que muestra un afecto ansiolítico del agonista dopaminérgico. Los resultados indican que el receptor dopaminérgico D2 contribuye a la modulación amigdalina de la ansiedad.

Capítulo 1. Ansiedad

1.1 Descripción de la ansiedad

La ansiedad es una respuesta fisiológica y conductual adaptativa inducida por una amenaza a la supervivencia o al bienestar emocional que prepara a un organismo a contender en contra de dicha amenaza (de la Mora, 2007; Steimer, 2002).

Todos los organismos vivos mantienen un equilibrio dinámico llamado homeostasis, este equilibrio es amenazado por ciertos estímulos físicos y psicológicos, los cuales son conocidos como estresores. Cuando una situación es percibida como estresante el cerebro activa el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), dicha respuesta es esencial para coordinar las respuestas conductuales y metabólicas al estrés (De Kloet, Joëls y Holsboer, 2005). La respuesta del eje HPA al estrés incluye la liberación de glucocorticoides de la corteza suprarrenal y catecolaminas de la medula adrenal y nervios simpáticos (Rodrigues, Ledoux y Sapolsky, 2009).

Esta respuesta se caracteriza por un aumento en los niveles de alerta del individuo y por una activación autonómica que resulta en un aumento de la expresión de un amplio rango de conductas adaptativas, que tienen como objetivo escapar de la fuente de peligro (Steimer, 2011). Así, de acuerdo con lo anterior, la ansiedad es una respuesta normal que está directamente involucrada con la supervivencia de las especies animales (Alfredo, 2002).

Tales conductas dependen del contexto en el que se da el peligro y del repertorio conductual característico de cada especie. En los humanos, la ansiedad se caracteriza por hipervigilancia y estado de alerta (Baas et al, 2006). En los animales es frecuente que ocurra la supresión de conductas operantes, de la actividad sexual y de la interacción social. Las conductas endócrinas y autonómicas van desde el aumento de la frecuencia cardíaca y la temperatura corporal, hasta el desarrollo de úlceras gástricas. Los procesos que subyacen la respuesta al estrés han sido llamados en su conjunto como alostasis, el cual es definido como el proceso mediante el cual un organismo busca recuperar las variables fisiológicas óptimas

que se ajusten a los estímulos del medio ambiente cambiante (McEwen and Wingfield, 2010; Ramsay and Woods, 2014).

1.2 Trastornos de ansiedad

Como se señaló antes la principal función del miedo y la ansiedad es la de implementar respuestas adaptativas apropiadas para la subsistencia del sujeto (Steimer, 2002). Se considera patológica la ansiedad cuando surge en ausencia de algún estímulo (Heinze, 2003). Los trastornos de ansiedad de acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales incluyen aquellos desórdenes que comparten características de miedo y ansiedad excesivos y alteraciones conductuales relacionadas (*DSM-5*, 2013) y se caracterizan por un curso intermitente en el que la presencia y severidad de los síntomas son remitentes y recurrentes (Baxter et al, 2014). Cabe señalar, que, desde el punto de vista epidemiológico, este tipo de trastornos son los más comunes dentro de la consulta psiquiátrica, al grado de que en México el 14.3% de la población ha padecido algún trastorno de ansiedad, encontrándose la mayor prevalencia en la población que va de 18 a 44 años (Medina-Mora et al., 2007).

De acuerdo con el *DSM-5*, (2013) se reconocen como trastornos de ansiedad las siguientes entidades:

- Trastorno de ansiedad por separación
- Mutismo selectivo
- Fobia específica
- Trastorno social de ansiedad
- Trastorno de pánico
- Agorafobia

- Trastorno generalizado de la ansiedad
- Trastorno de ansiedad ocasionado por alguna condición médica

Capítulo 2. Modelos animales para el estudio de la ansiedad

Dado que los trastornos de ansiedad son los trastornos mentales más comunes (Griebel y Holmes, 2013), se considera necesario identificar aquellos factores neurobiológicos que intervienen en su desarrollo.

Para el estudio de los fenómenos de ansiedad se han desarrollado modelos animales en aras de identificar aquellos circuitos y mecanismos cerebrales implicados en su producción, tanto bajo condiciones normales como patológicas, así como para la identificación de herramientas farmacológicas con un potencial terapéutico promisorio (Treit, 1985). Dichos modelos se basan en la capacidad de respuesta de un animal ante un estímulo peligroso o aversivo (Griebel y Holmes, 2013) y tienen la ventaja de poder ser utilizados bajo condiciones experimentales que por razones éticas y prácticas son imposibles de ser utilizadas en los humanos.

Cabe señalar que no existe un modelo animal único capaz de abarcar toda la gama de manifestaciones clínicas y conductuales que se observan en los desórdenes de ansiedad en los humanos y que dichos modelos explotan la ansiedad evocada por situaciones potencialmente peligrosas para los animales para los que fueron desarrollados y no necesariamente para los humanos por lo que los resultados obtenidos en ellos deben interpretarse con cuidado cuando se les intenta trasladar a los humanos (Calhoon y Tye, 2015). Por otro lado, para que un modelo animal pueda ser considerado como válido debe cumplir con 3 tipos de validez (Bourin et al, 2007; Treit, 1985).

- Validez aparente. Implica que las respuestas conductuales y fisiológicas observadas en los animales deben ser idénticas o al menos parecidas a las observadas en los humanos.
- Validez predictiva. El modelo debe ser sensible a los efectos tanto de agentes farmacológicos ansiolíticos como ansiogénicos.

- Validez de constructo. Se requiere que los factores biológicos subyacentes a los desórdenes que modelan sean similares tanto en los animales como en los humanos.

2.1 Modelos condicionados

Los modelos condicionados se basan en la capacidad de los animales a asociar la ocurrencia de dos o más condiciones, p. ej. dos estímulos, los cuales son presentados en contingencia temporal, de este modo un estímulo neutral puede adquirir las propiedades afectivas de un estímulo biológicamente significativo (LeDoux, 2000).

2.2 Modelos no condicionados

Los modelos no condicionados o incondicionados cuentan con una mayor validez ecológica, ya que se basan en respuestas estereotipadas ante la exposición de los animales a estímulos que se asemejan a aquellos que están presentes en su ambiente natural. En estos modelos de ansiedad no son necesarios entrenamientos previos para que el animal despliegue la conducta defensiva (Engin y Treit, 2008; Polanco, 2011; Rodgers et al., 1997).

En la siguiente tabla se enlistan algunas de las pruebas conductuales más usadas en la investigación de la ansiedad.

Tabla 1 Algunos modelos experimentales en el estudio de la ansiedad, adaptada de Calhoon y Tye, 2015; Griebel y Holmes, 2013; Rodgers et al., 1997

Modelos no condicionados	Modelos condicionados
Enterramiento defensivo	Respuesta emocional condicionada
Tabla de agujeros	Condicionamiento de aversión al sabor
Caja luz/oscuridad	Evitación pasiva/activa
Laberinto elevado en cruz	Test de conflicto de Vogel
Interacción social	Prueba de sobresalto potenciada por miedo
Supresión de la ingesta inducida por la ansiedad	
Campo abierto	
Laberinto elevado en forma de cero	

2.3. Prueba de enterramiento defensivo

El enterramiento defensivo se refiere a la conducta estereotipada de desplazar material de cama hacia alguna fuente de estimulación aversiva utilizando movimientos alternados con las patas delanteras (De Boer y Koolhaas, 2003; Pinel y Treit, 1978) La prueba del enterramiento defensivo, que fué utilizada en este trabajo de tesis, es una prueba no condicionada y que por consiguiente no requiere de un entrenamiento previo. Dicha prueba es utilizada para evaluar ansiedad en los roedores, explotando la tendencia natural de estos animales a enterrar cualquier objeto que sea aversivo para ellos (De Boer y Koolhaas, 2003) incluyendo electrodos (Pinel y Treit, 1978), trampas para ratón (Terlecki, Pinel, y Treit, 1979), olor de depredador (Holmes, 2002) y exposición a un escorpión (Londei, Valentini, G. Leone, 1998). De esta manera, se considera que un aumento en el tiempo de enterramiento de un electrodo permanentemente electrificado en la cercanía de un roedor y con el que ha estado en contacto y recibido un choque eléctrico señala un estado de ansiedad exacerbada en tanto que la falta o disminución del tiempo de enterramiento con respecto a un grupo control indica un estado ansiolítico. La latencia al enterramiento después de haber recibido el primer choque eléctrico se considera en cambio la reactividad del sujeto experimental.

En estudios endocrinológicos se ha reportado un aumento en los niveles de catecolaminas y corticosterona en ratas expuestas a la prueba de enterramiento defensivo (De Boer et al., 1990; Korte et al., 1992). De igual manera estudios fisiológicos muestran un incremento en temperatura corporal y frecuencia cardiaca (Diamant et al., 1992; Korte y Bohus, 1990).

Por otro lado, benzodiacepinas, entre las que se encuentran el clordiazepóxido y el midazolam, disminuyen significativamente el enterramiento defensivo (Treit, Pinel, y Fibiger, 1981). De igual manera lo hacen algunos ansiolíticos que actúan sobre el sistema serotoninérgico como la buspirona (Treit y Fundytus, 1988) o la ipsapirona (Korte et al., 1992). La conducta de enterramiento también es revertida por acción

de algunas hormonas esteroideas como la progesterona y algunos de sus derivados (Contreras et al., 2003).

Capítulo 3. Sustratos neuroanatómicos de la ansiedad

3.1. La amígdala

La amígdala fue identificada como una región cerebral en 1819 por el neurofisiólogo alemán Karl Friederich Burdach, quien descubrió una masa de materia gris con forma de almendra en la parte medial del lóbulo temporal (Ledoux, 2007; Swanson y Petrovich, 1998). El nombre de esta estructura proviene del griego amígdala, que significa almendra, debido al parecido con esta fruta.

J.B. Johnston (1923) introdujo la descripción fundamental de la amígdala más usada en la actualidad. Los núcleos amígdalinos están clasificados con base en criterios histológicos, tales como la densidad, configuración, forma y tamaño de las células y la trayectoria de las fibras (Ledoux, 2007; Rodrigues et al., 2009). Por lo que la amígdala está compuesta principalmente por tres grupos de núcleos (Sah., 2003) (Figura 1).

- 1) Núcleos basolaterales. Incluye al núcleo lateral, el núcleo basal y el núcleo basal accesorio.
- 2) El grupo cortical o superficial. Incluye los núcleos corticales y el núcleo lateral del tracto olfatorio.
- 3) El grupo centromedial. Incluye los grupos central y medial.
- 4) Otros núcleos amigdalinos.

3.2. Núcleos basolaterales

Estos núcleos en su conjunto suelen nombrarse como el complejo basolateral (Johnston, 1923). El núcleo lateral (LA) está localizado dorsalmente en la amígdala. Colinda lateralmente con la cápsula externa y con las islas intercaladas paracapsulares laterales y medialmente con el núcleo central y las islas intercaladas

paracapsulares mediales (Palomares-Castillo et al., 2012). El núcleo basal (BA) se encuentra ventral al núcleo lateral, mientras que el núcleo basal accesorio (BAA) está localizado ventral al núcleo basal. Casi todas son neuronas piramidales, y en cuanto al tipo de neurotransmisión, en su mayoría son neuronas de proyección glutamatérgicas, además de contar con algunas interneuronas GABAérgicas (Sah et al., 2003).

3.3. Grupo cortical o superficial

A pesar de que estas estructuras superficiales son llamadas núcleos cuentan con características corticales, tales como estar localizadas en la superficie del cerebro y tener una estructura laminar. Se compone del núcleo lateral del tracto solitario (NLOT), el núcleo cama del tracto olfatorio accesorio (BAOT), el núcleo cortical anterior (CoA), el núcleo cortical posterior (CoP) y la corteza periamígdalina (PAC) (Sah et al., 2003).

3.4. Núcleos centromediales

Se encuentran en la región dorsomedial del complejo amigdalino. El núcleo central (CeA) está localizado dorsomedialmente en la parte más rostral de la amígdala. Está bordeado lateralmente por el complejo basolateral y las islas intercaladas paracapsulares, dorsalmente por el globo pálido y medialmente por la estría terminalis (Sah et al., 2003). El núcleo central en su totalidad posee principalmente neuronas GABAérgicas (Swanson y Petrovich, 1998). Dentro del núcleo central fueron identificadas mediante tinciones de Nissl, técnicas inmunohistoquímicas y de trazado retrógrado dos zonas principales; la parte lateral (CeL) y la parte medial (CeM) (Cassell, Gray, y Kiss, 1986). Las células GABAérgicas de la parte lateral son neuronas espinosas medianas que muestran abundantes ramificaciones y numerosas espinas dendríticas, mientras que las células GABAérgicas de la parte

medial muestran mínimas derivaciones y pocas espinas (Cassell et al., 1986; Keifer et al., 2015).

El núcleo medial (MeA) se encuentra cerca de la superficie delimitado medialmente por el tracto óptico (Sah et al., 2003).

De acuerdo con su estructura citoarquitectónica e inmunohistoquímica a los núcleos centromediales se les considera que están relacionados con el estriado al contar principalmente con neuronas GABAérgicas (Swanson y Petrovich, 1998) y tener el mismo origen embriológico que otras estructuras estriatales (Bupesh, Abellán, y Medina, 2011; Stoop, Hegoburu, y van den Burg, 2015).

3.5. Otros núcleos amigdalinos.

Existen otros núcleos que son difíciles de clasificar de acuerdo con los criterios antes mencionados. El área amigdalina anterior (AAA), el área amígdalo-hipocampal (AHA) y las islas intercaladas. El AHA es la parte más caudal de los núcleos amigdalinos (Sah et al., 2003). Las islas intercaladas son un grupo de neuronas GABAérgicas agrupadas en racimos que rodean al complejo basolateral (islas intercaladas laterales). Estas islas intercaladas también se encuentran entre el complejo basolateral y el núcleo central (islas intercaladas mediales) además de la isla intercalada principal, la cual se encuentra ventral con respecto a las islas intercaladas paracapsulares mediales (Palomares-Castillo et al., 2012).

3.6. La amígdala extendida

Aunque la anterior clasificación ha sido la que cuenta con mayor aceptación, algunos autores han sugerido que la amígdala centromedial debe ser extendida rostral y medialmente, señalando que el núcleo cama de la estría terminal (BNST) mantiene proyecciones recíprocas con la amígdala y cuenta también con proyecciones descendentes similares a ella (Alheid, 1988; Sah et al., 2003).

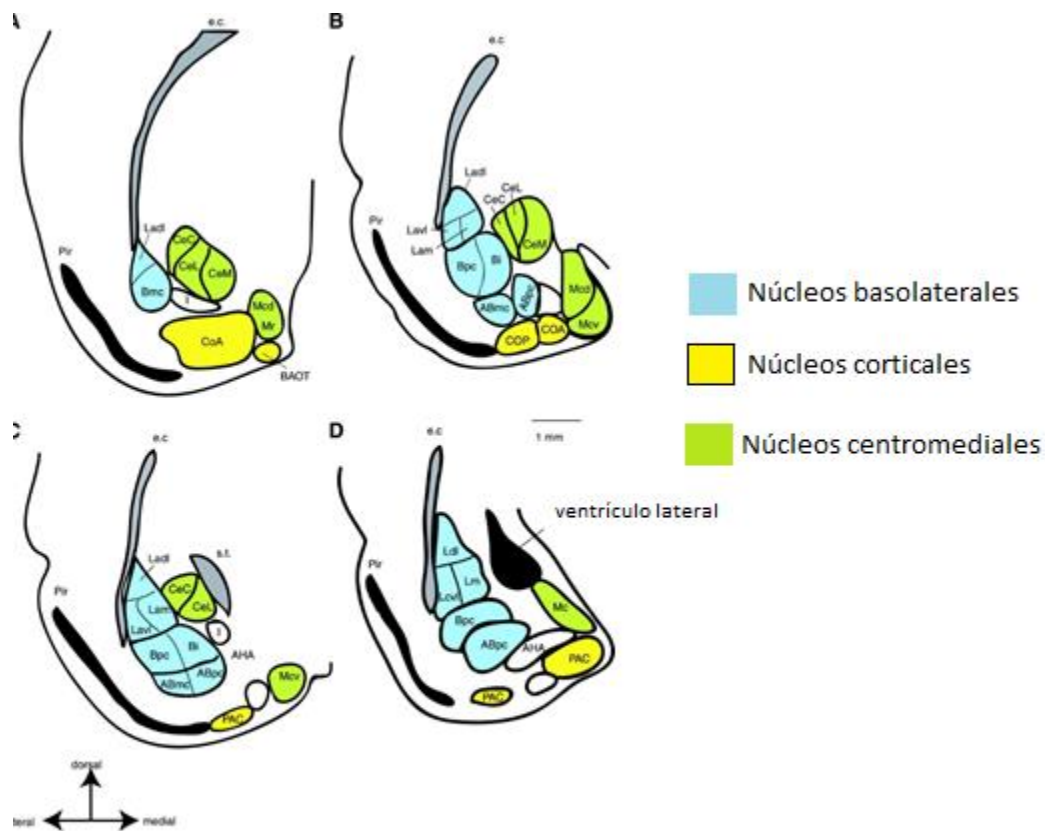


Figura 1 Núcleos de la amígdala de rata. Secciones coronales mostradas en sentido rostral (A) a caudal (D). Los núcleos están divididos conforme a las tres divisiones mostradas en el texto. Áreas en azul muestran los núcleos que forman el complejo basolateral, áreas en amarillo forman los núcleos corticales y las áreas en verde forman los núcleos centromediales. Abreviaturas: **ABmc**, núcleo accesorio basal subdivisión magnocelular; **ABpc**, núcleo accesorio basal división parvocelular; **Bpc**, núcleo basal división magnocelular; **Ladi**, amígdala lateral subdivisión dorsal; **Lam**, amígdala lateral subdivisión medial; **Lavi**, amígdala lateral subdivisión ventrolateral; **Mcd**, amígdala dorsal subdivisión medial; **Mcv**, amígdala medial subdivisión ventral; **Mr**, amígdala medial subdivisión rostral; **CoA**, núcleo cortical anterior; **CoP**, núcleo cortical posterior; **CeL**, núcleo central subdivisión lateral; **CeC**, núcleo central subdivisión capsular; **CeM**, núcleo central subdivisión medial. Tomado de Sah et al., 2003.

3.7. Conectividad amigdalina

Las proyecciones hacia la amígdala pueden ser separadas en aquellas provenientes de zonas corticales y talámicas y aquellas que provienen del hipotálamo y del tallo cerebral. Las que provienen de zonas corticales (McDonald,

1998) y talámicas (Ledoux et al., 1987), suministran información de las áreas sensoriales mientras que las eferencias provenientes del hipotálamo y tallo cerebral suministran información autonómica y somatosensorial (Sah et al., 2003).

La amígdala recibe aferencias de todas las modalidades sensoriales (Figura 2). La información visual llega a la amígdala proveniente del tálamo y áreas corticales visuales (Sah et al., 2003). Proyecciones olfatorias provenientes de los bulbos olfatorios principal y accesorio, proyecciones del tracto olfatorio lateral y el núcleo cortical anterior llegan al MeA, (Keshavarzi et al., 2015). En el caso de las proyecciones somatosensoriales, proyecciones originadas desde las cortezas somatosensoriales primarias llegan a los núcleos lateral, basal y central vía la corteza insular parietal granular y disgranular (Shi y Cassell, 1998). Información somatosensorial, con un papel relevante para el procesamiento amigdalino del dolor alcanza también el CeL a través de proyecciones del núcleo parabraquial (Neugebauer et al., 2009). La corteza prefrontal infralímbica (IL) (Vertes, 2004) al igual que BNST mantienen proyecciones con el CeM (Keifer et al., 2015). Aunque en menor densidad, el BNST también mantiene proyecciones con CeL (Gungor y Pare, 2016). Al CeA también llega información proveniente de la corteza y del tálamo auditivo (Keifer et al., 2015).

En cuanto a las proyecciones intra amigdalinas que recibe el CeL recibe proyecciones del LA, y de las islas intercaladas paracapsulares mediales en su región dorsal. El CeM recibe a su vez proyecciones del núcleo basal y de las islas intercaladas parapsulares mediales en su región ventral (Keifer et al., 2015). Adicionalmente, células GABAérgicas del CeL envían proyecciones GABAérgicas al CeM (Ehrlich et al., 2009).

Finalmente cabe señalar que la amígdala manda proyecciones a estructuras tales como el hipotálamo lateral (LH), el hipotálamo dorsomedial (DMH), el área preóptica medial (mPOA), el área gris periacueductal (PAG), el núcleo paraventricular (PVN) y el núcleo cama de la estría terminal (BNST) (Brent Myers et al, 2014; Gungor Pare, 2016; Keifer et al., 2015; Krettek y Price, 1978).

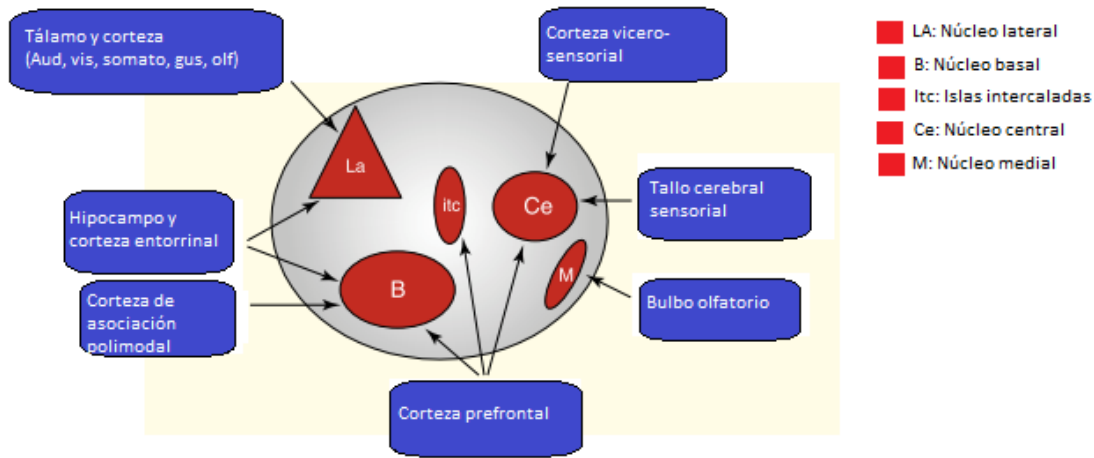


Figura 2 Resumen de las aferencias a los núcleos del complejo amigdalino. Modificado de Ledoux, 2007.

3.8. Modulación amigdalina de la ansiedad

La amígdala es una de las estructuras más importantes en la modulación de la ansiedad (Calhoun y Tye, 2015; Davis y Whalen, 2001; Engin y Treit, 2008). Gran parte del conocimiento acerca del procesamiento de la información y modulación amigdalina de las conductas de miedo y ansiedad se ha desarrollado en el paradigma de miedo condicionado (LeDoux, 2000). De acuerdo con el modelo clásico la información relevante proveniente del ambiente llega a LA a través de proyecciones talámicas y corticales (Debiec, 2004). Esta información es procesada y retransmitida al CeM, donde, se implementan las respuestas al miedo y ansiedad que son enviadas, a través de sus proyecciones hacia núcleos del hipotálamo y del tallo cerebral (Duvarci y Pare, 2014; LeDoux et al., 1988; Rodrigues et al., 2009). Sin embargo, dado que entre el LA y el CeM no hay conexiones directas, por lo que el tráfico de información entre estas dos regiones amigdalinas es indirecto y está modulado por neuronas GABAérgicas localizadas en la parte lateral del CeA y en las islas intercaladas paracapsulares que funcionan como interfases inhibitorias (Palomares-Castillo et al., 2012). Adicionalmente, las islas paracapsulares, situadas

lateralmente al BLA, en la cápsula externa, controlan el tráfico de impulsos entre la corteza prefrontal y el BLA (Marowsky et al., 2005). Por otro lado, dentro del CeL han sido identificadas dos tipos de neuronas GABAérgicas interconectadas; las células CeL-on que aumentan su actividad en respuesta al condicionamiento pavloviano y las CeL-off que disminuyen su actividad durante el fenómeno de evocación (Ciocchi et al., 2010; Duvarci y Pare, 2014; Haubensak, 2010; Pare y Duvarci, 2012).

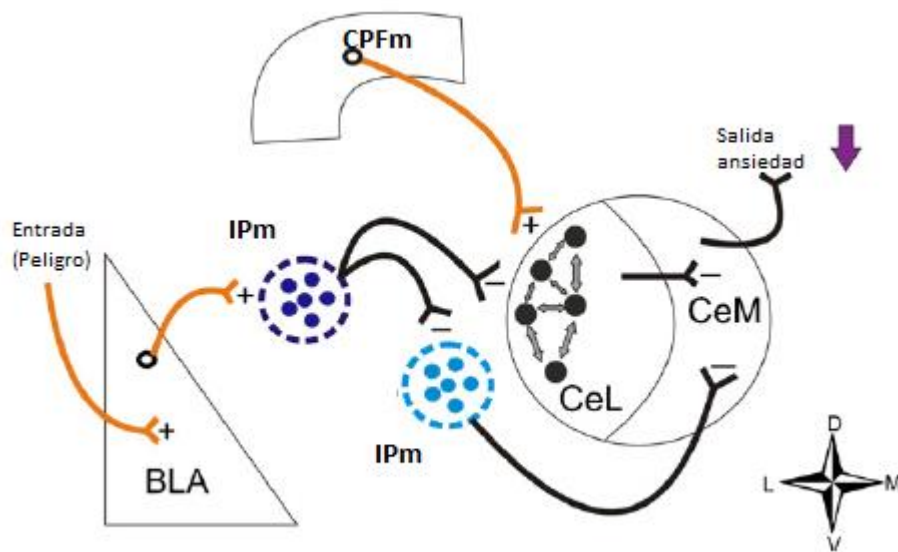


Figura 3 Interfases GABAérgicas controlan el flujo de información entre el complejo basolateral y el núcleo central y entre las porciones lateral y medial del núcleo central. Líneas naranjas corresponden a conexiones glutamatergicas y las líneas negras corresponden a conexiones GABAérgicas. Modificado de Pérez de la Mora et al., 2010.

Capítulo 4. La neurotransmisión dopaminérgica en la amígdala

4.1. La dopamina

La dopamina es una catecolamina que cumple funciones de neurotransmisión en el sistema nervioso central. Al igual que las otras catecolaminas, la adrenalina y la noradrenalina, está formada por un grupo catecol (anillo de benceno con dos grupos hidroxilo) y una cadena de etilamina (Figura 4) (Bahena-Trujillo, Flores, y Arias-Montaño, 2000).

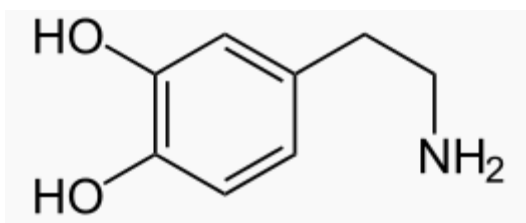


Figura 4 Estructura química de la dopamina.

La dopamina es un modulador de la función cardíaca, renal, del tono vascular y de la motilidad gastrointestinal. En el sistema nervioso central es la catecolamina más abundante y ha sido involucrada en varias funciones importantes; como por ejemplo el movimiento, la atención, el aprendizaje y los efectos reforzantes de las drogas (Bahena-Trujillo et al., 2000)

4.2. Síntesis y liberación de la dopamina

La síntesis de la dopamina tiene lugar en las terminales presinápticas, donde se encuentran en alta concentración las enzimas responsables de su síntesis; la tirosina hidroxilasa (TH) y la DOPA descarboxilasa. El precursor de la dopamina es un aminoácido llamado tirosina. Por acción de la TH la tirosina recibe un grupo hidroxilo (OH⁻) y se convierte en L-DOPA, la cual al perder su carboxilo por acción de la DOPA descarboxilasa se transforma finalmente en dopamina (Bahena-Trujillo et al., 2000) (Figura 5).

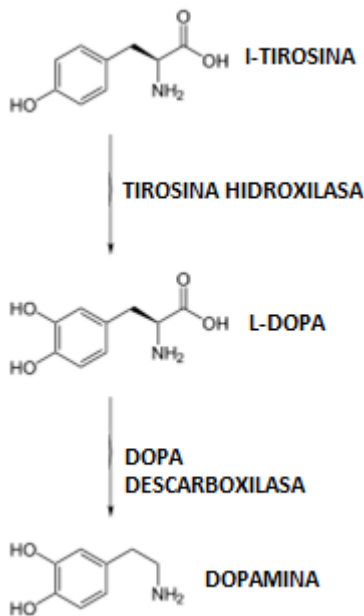


Figura 5 Síntesis de la dopamina.

La liberación de dopamina por exocitosis ocurre cuando la dopamina contenida en las vesículas sinápticas, en su mayor parte (90%) unidas al citoesqueleto, es liberada al exterior de las terminales al fusionarse con la membrana de la terminal presináptica. Este proceso de fusión, conocido como anclaje, es dependiente de calcio y ocurre como respuesta al potencial de acción (Bahena-Trujillo et al., 2000).

La finalización del efecto de la dopamina se debe principalmente a su captura por parte del transportador a la dopamina (DAT) que modula la concentración de dopamina en la sinapsis (Cooper, 2003). La dopamina re-capturada es convertida en ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) por acción de la monoamino-oxidasa (MAO), posteriormente el DOPAC es liberado al exterior de la terminal para ser convertido en ácido homovanílico (HVA) por la acción de la catecol-O-metiltransferasa (COMT) (Cooper, 2003).

4.3. Sistema dopaminérgico

Dahlstrom y Fuxe (1964) mostraron por primera vez la existencia de dos distintas poblaciones de cuerpos celulares dopaminérgicos en el mesencéfalo ventral de la rata, las cuales fueron designados como A9 y A10 y corresponden con las neuronas dopaminérgicas localizadas en la sustancia nigra y el área tegemental ventral (VTA) respectivamente.

Tres vías mayores dopaminérgicas han sido identificadas en el cerebro de los mamíferos ; la nigroestriatal, la mesolímbica y la mesocortical que se originan desde los grupos A9 (nigroestriatal) y A10 (mesolímbica y mesocortical), de acuerdo con la clasificación de Dahlstrom y Fuxe (Figura 6).

- a) La vía nigroestriatal. Las neuronas dopaminérgicas de esta vía se localizan en la sustancia nigra (A9) y proyectan sus axones al neostriado: el núcleo caudado y el putamen. El neostriado es una parte importante de los ganglios basales, que están implicados en el control del movimiento.
- b) Vía mesolímbica. Las neuronas dopaminérgicas de esta vía se localizan en el área tegemental ventral (A10) y proyectan sus axones a varias partes del sistema límbico, incluyendo el núcleo accumbens, la amígdala y el hipocampo.
- c) Vía mesocortical. Las neuronas dopaminérgicas de esta vía se localizan en el área tegemental ventral (A10) y proyectan sus axones a la corteza prefrontal.

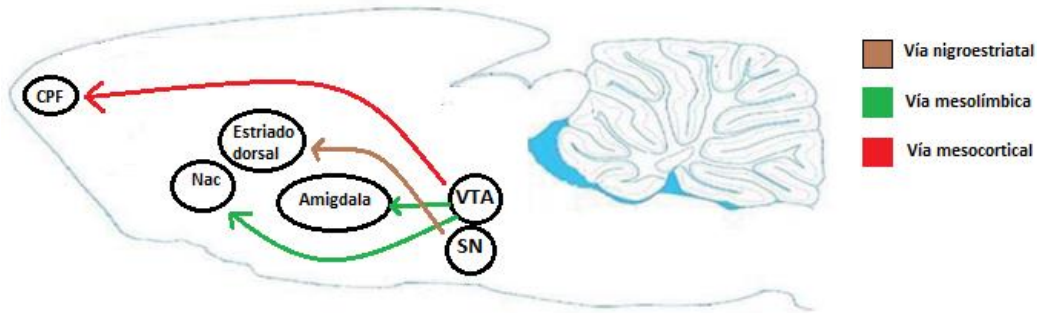


Figura 6 Representación esquemática de las principales vías dopaminérgicas en el encéfalo de rata. Modificado de Zarrindast, 2015.

4.4. Inervación dopaminérgica de la amígdala

Las neuronas dopaminérgicas que proveen de inervación a la amígdala se originan de células situadas en la parte medial, anterior, lateral y posterolateral del VTA (A10), así como de las porciones medial y lateral de la sustancia nigra (A9) (Perez de la Mora et al., 2010).

En la rata la mayoría de los axones dopaminérgicos se unen al haz prosencefálico medial (Fallon, Koziell, y Moore, 1978) (Figura 7). Diversos autores han estudiado la inervación dopaminérgica en la amígdala y han mostrado que esta no es uniforme en todos sus núcleos. El núcleo central es el área amigdalina más inervada, principalmente en su porción lateral (CeL), en donde se observó la mayor densidad de fibras TH+ (Eliava, Yilmazer-Hanke, y Asan, 2003; Yilmazer-Hanke et al, 2016). En esta región se encontraron terminales que mostraron una intensa ramificación, así como también una gran cantidad de botones presinápticos, que mostraron establecer sinápsis simétricas (Asan, 1997). Otra región densamente inervada por fibras dopaminérgicas fueron los grupos de islas intercaladas paracapsulares (Marcellino et al., 2012; Pérez de la Mora et al., 2010). Una menor inervación fue detectada en los núcleos basolateral y basomedial y solo una débil inervación se encontró en los núcleos lateral y medial (Marcellino et al., 2012; Yilmazer-Hanke et al., 2016).

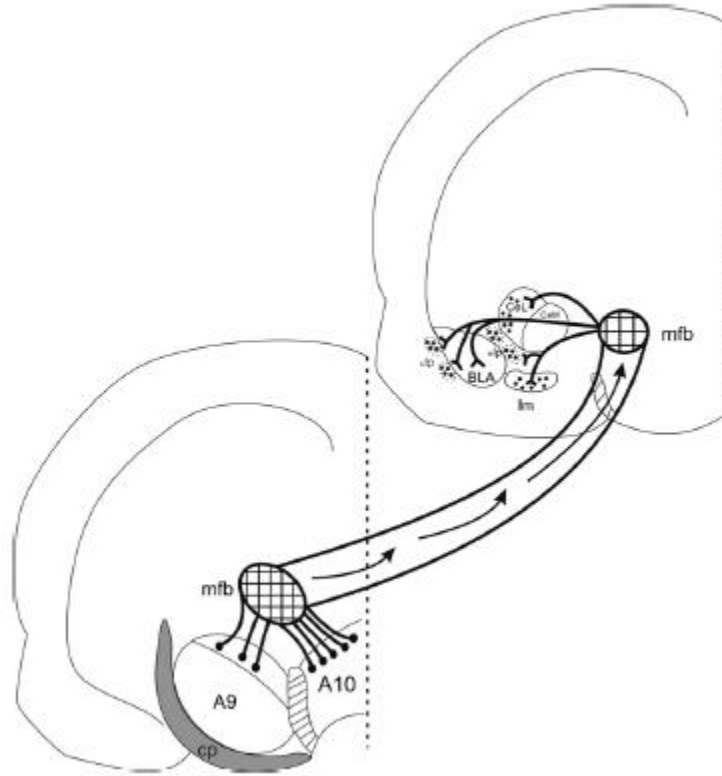


Figura 7 Representación de la innervación de la amígdala por neuronas dopaminérgicas provenientes de las áreas A9 y A10 tomado de Pérez de la Mora et al., 2010.

4.5. Receptores dopaminérgicos

La amplia variedad funcional dopaminérgica en el cerebro y la periferia están mediadas por los receptores dopaminérgicos. Todos los receptores dopaminérgicos son receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G (GPCR por sus siglas en inglés), estas últimas constituidas por tres diferentes subunidades α , β , y γ (Bahena-Trujillo et al., 2000) Al igual que todos los demás miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G, los receptores dopaminérgicos cuentan con siete dominios transmembranales hidrofóbicos, un extremo N-terminal extracelular y un extremo C-terminal intracelular (Beaulieu, Espinoza, y Gainetdinov, 2015). En su estado inactivo una molécula de GDP está unida a la proteína G. Cuando esta se activa se provoca un cambio conformacional que hace que la molécula de GDP

sea sustituida por una molécula de GTP. Como consecuencia de esto, la subunidad α se separa del trímero constituido por las subunidades α, β , y γ .

Existen cinco subtipos de receptores dopaminérgicos: D1, D2, D3, D4 y D5 agrupados en dos familias de acuerdo con el tipo de proteína G al cual se acopla cada receptor. La familia D1 está conformada por los receptores D1 y D5, los cuales se acoplan a una proteína G_s , que estimula la actividad de la adenilato ciclasa (Neve et al., 2004) (Figura 8). La activación de la adenilato ciclasa provoca un aumento en los niveles de AMP cíclico y a través de la activación de la proteína cinasa A (PKA) (Neve et al., 2004). Una de las consecuencias de la activación de la PKA por los receptores dopaminérgicos es la fosforilación de la proteína DARPP-32, la cual es un componente crítico en la plasticidad sináptica (Abraham, Neve, y Lattal, 2014). La activación de los receptores D1 conlleva al incremento de la excitabilidad neuronal al incrementar las corrientes de sodio y la apertura de los canales de calcio tipo L (Beaulieu y Gainetdinov, 2011).

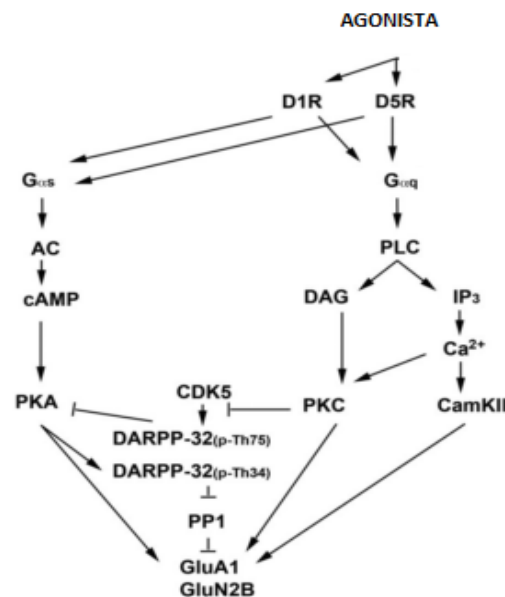


Figura 8 Señalización intracelular de los receptores dopaminérgicos de la familia D1 tomado de Beaulieu et al., 2015.

La familia D2 está conformada por los receptores D2, D3 y D4, los cuales se acoplan a proteínas $G_{i/o}$. La actividad de la subunidad $G\alpha$ inhibe la formación de la adenilato ciclasa, lo que provoca una disminución en los niveles de AMPc (Neve et al., 2004), mientras que las subunidades $G\beta\gamma$ activan la fosfolipasa C (PLC), lo que provoca un aumento en los niveles de Ca^{2+} citoplásmico (Hernandez-Lopez et al., 2000). Adicionalmente, los mecanismos mediados por las subunidades $G\beta\gamma$ están relacionados con la regulación de los canales de calcio tipo P/Q, L y N, que provocan una disminución de las corrientes de calcio (Hernandez-Lopez et al., 2000), así como también modificaciones funcionales de los canales de potasio denominados GIRK (Neve et al., 2004) (Figura 9). El conjunto de estas modificaciones funcionales disminuye la excitabilidad neuronal (Hernandez-Lopez et al., 2000; Neve et al., 2004).

Existe evidencia de que el receptor D2 puede señalar mecanismos celulares que son independientes de la modulación del AMPc e involucran a la β -arrestina 2 (β Arr2) (Beaulieu et al., 2005). Las arrestinas son una familia de proteínas que originalmente fueron caracterizadas por su participación en la desensibilización e internalización de los receptores beta-adrenérgicos (Lohse., 1990) y posteriormente por su papel en la señalización de cinasas y fosfatasas (Luttrell y Lefkowitz, 2002).

Mediante clonación molecular se ha demostrado la existencia de dos isoformas del receptor D2, denominadas D2L y D2S que se diferencian por 29 aminoácidos adicionales presentes en el tercer haz intracelular de la forma larga del receptor como resultado de un corte y empalme alternativo. Estas dos isoformas cuentan con diferentes propiedades fisiológicas, farmacológicas y de señalización (Beaulieu et al., 2015), esto puede ser debido a que el tercer haz intracelular participa en el acoplamiento del receptor D2 a su proteína G, las isoformas D2L y D2S pueden unirse a diferentes proteínas G (Senogles, 1994; Wolfe y Morris, 1999).

Aunque ha sido propuesto que mientras la isoforma D2L se expresa en la postsinapsis y la isoforma D2S es expresada en la terminal presináptica, cumpliendo funciones de autorreceptor (Lindgren et al., 2003), estudios recientes han indicado

que ambas isoformas pueden participar indistintamente como receptores postsinápticos o como autorreceptores presinápticos (Neve et al., 2013).

Los autorreceptores están localizados tanto en el soma como en las dendritas de las neuronas dopaminérgicas del VTA y la SNc, así como en sus terminales axónicas (Beaulieu y Gainetdinov, 2011) y juegan un papel fundamental en la regulación del sistema dopaminérgico controlando tanto la excitabilidad neuronal como la liberación y la síntesis de la dopamina (Ford, 2014). Los autoreceptores modulan esta última actividad facilitando directamente la apertura de canales para el potasio (Bahena-Trujillo et al., 2000) e indirectamente controlando la expresión de la TH (Neve et al., 2004).

La reducción en la formación de AMPc disminuye la actividad de la PKA, que fosforila a las sinapsinas I y II, impidiendo de esta manera el anclaje de las vesículas sinápticas a la membrana presináptica y la consiguiente liberación de dopamina al espacio sináptico (Bahena-Trujillo et al., 2000).

Cabe señalar, finalmente, que aunque algunas observaciones indican que el transportador para la dopamina (DAT) es modulado a través de la actividad de los autorreceptores D2 (Ford et al., 2010) estudios efectuados en ratones KO para este receptor ponen en duda su veracidad (Bello et al., 2011).

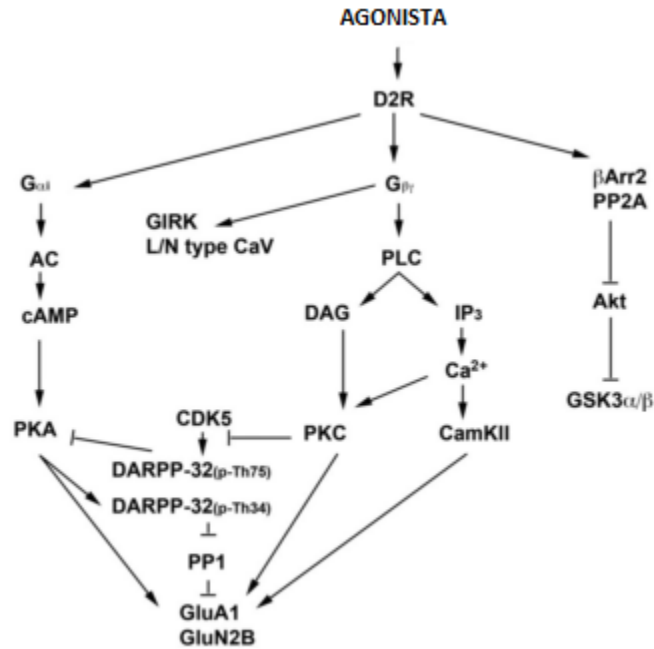


Figura 9 Señalización intracelular de los receptores dopaminérgicos D2 tomado de Beaulieu et al., 2015.

4.6. Distribución de los receptores dopaminérgicos en la amígdala

Los receptores dopaminérgicos poseen una distribución diferencial dentro de la amígdala (Perez de la Mora et al., 2010). Así, mientras que los receptores D1 se encuentran ricamente representados en las islas intercaladas paracapsulares, están prácticamente ausentes en el CeA y el MeA (Palomares-Castillo et al., 2012; Scibilia, Lachowicz, y Kilts, 1992).

Con respecto a la distribución de los receptores D2 cabe destacar que en el estudio de Scibilia et al. (1992), se detectó una alta densidad de estos receptores en el CeA siguiendo un gradiente latero-medial, con la más alta densidad de receptores en la parte lateral de este núcleo. Resultados similares fueron observados en nuestro laboratorio usando técnicas de inmunohistoquímica, autorradiografía e hibridación *in situ* (Perez de la Mora et al., 2012) y más recientemente en un estudio en el que se usó a la proteína verde fluorescente (eGFP) como reportero de la expresión del

receptor D2 (De Bundel et al., 2016). Cabe señalar además, que en oposición a lo señalado anteriormente, en otro estudio, usando un anticuerpo en contra la isoforma corta de los receptores D2 de humanos, fue encontrada inmunoreactividad en BLA pero no en el CeA (Maltais, 2000). Por otro lado, la presencia de autorreceptores D2 en el CeA es incierta. Bull et al (1991) usando voltametría cíclica rápida, reportó que en rebanadas de amígdala la estimulación eléctrica de neuronas dopaminérgicas en el CeA provocó la liberación de dopamina y de que este efecto fue bloqueado por un agonista de los receptores D2 pero no de los receptores D1, sugiriendo que la actividad dopaminérgica en el CeA podría ser modulada por autorreceptores presinápticos D2. En oposición con esto, Margolis et al. (2008) no encontró inhibición de las neuronas del VTA cuando administró un agonista de los receptores D2. Adicionalmente, en línea con el estudio de Margolis et al. (2008) evidencia reciente ha mostrado que los receptores D2 en el CeL están expresados postsinápticamente en neuronas PKC δ + (De Bundel et al., 2016), de naturaleza gabaérgica (Haubensak, 2010).

En cuanto a los receptores D3 estos solamente han sido localizados en el complejo basolateral (Gurevich and Joyce, 1999).

Resulta claro entonces que los receptores D1 y D2 se encuentran diferencialmente distribuidos en la amígdala puesto que los receptores D2 están casi exclusivamente presentes en la porción lateral del núcleo central, que a su vez carece de receptores D1 (Pérez de la Mora et al., 2010).

4.7. Modulación dopaminérgica de la ansiedad

Numerosos estudios han indicado que el sistema dopaminérgico mesolímbico juega un papel importante en la modulación de la ansiedad (Pérez de la Mora et al., 2010; Pezze and Feldon, 2004; Zarrindast, 2015) (Tabla 2). Así, experimentalmente se ha reportado que bajo situaciones estresantes hay un aumento en los niveles de dopamina extracelular en la amígdala (Inglis y Moghaddam, 1999). En la misma

línea Deutch (1985), mostró que el miedo condicionado incrementa la liberación de dopamina por parte de las células dopaminérgicas del VTA, pero no de la sustancia nigra. Así mismo, la lesión de las neuronas dopaminérgicas mediante el uso de la 6-OHDA disminuyó las conductas de miedo en el paradigma de evitación condicionada (Ashford y Jones, 1976). La administración de quinpirol (un agonista D2) en el VTA, por otro lado, bloqueó la conducta de sobresalto potenciado por miedo, al disminuir la transmisión dopaminérgica proveniente del VTA, debido a la activación de supuestos autorreceptores dopaminérgicos D2 (Munro y Kokkinidis, 1997).

Dentro de otra línea de investigación, estudios realizados indican que la vía dopaminérgica mesolímbica modula la actividad ansiogénica de la amígdala regulando la transmisión de información a través de las interfases GABAérgicas constituidas por la isla intercalada principal y resto de las islas intercaladas paracapsulares y en el CeL (Palomares-Castillo et al., 2012). En apoyo de lo anterior, cabe señalar que la mayor densidad de receptores dopaminérgicos D1 (Scibilia et al., 1992; Fuxe, 1965) se encuentra presente en las islas intercaladas paracapsulares, en tanto que la mayor densidad de fibras dopaminérgicas (Marcellino et al., 2012; Yilmazer-Hanke et al., 2016) y de receptores D2 está localizada en la porción lateral del CeA (Scibilia et al., 1992; De Bundel et al., 2016; Pérez de la Mora et al., 2012). La dopamina parecería, en vista de lo anterior, ejercer su modulación sobre la transmisión gabaérgica presente en cada interfase de diferente manera dependiendo del tipo de receptor expresado en cada región amigdalina (Pérez de la Mora et al., 2010).

Conductualmente, usando el paradigma luz-oscuridad, una prueba de ansiedad no condicionada, Pérez de la Mora et al. (2005), mostró que la administración de SCH23390, un antagonista selectivo de los receptores dopaminérgicos D1, redujo las conductas de ansiedad. Dichos resultados mostraron, por primera vez, que el sistema dopaminérgico amigdalino participaba en la modulación de la ansiedad/miedo no condicionado a través de los receptores D1 y apoyaba los resultados de Lamont and Kokkinidis (1998) y de Guarraci, Frohardt, y Kapp (1999)

en modelos de miedo condicionado que sugerían que los receptores D1 tenían un papel ansiogénico en dicha modulación.

Con respecto al papel de los receptores D2 los resultados obtenidos han sido contradictorios (Véase la Tabla 2). En modelos condicionados Guarraci et al (2000), mostró que la administración de un antagonista para los receptores D2 administrado en el CeA atenuó la conducta de congelamiento como resultado del bloqueo de la memoria de miedo. En la misma línea el estudio de De Oliveira et al. (2011), mostró que el quinpirol administrado en el VTA decrementó los niveles de dopamina en BLA, mientras que el sulpiride, un antagonista D2 administrado en BLA bloqueó la respuesta de miedo en el paradigma de sobresalto potenciado por miedo, resultado similar al obtenido por Greba et al (2001). En contraste con los resultados anteriores, un estudio reciente (De Bundel et al 2016) usando una prueba de generalización de miedo mostró que el bloqueo de los receptores D2 en CeL facilitó la generalización del congelamiento condicionado, mientras que la administración de quinpirol sistémico facilitó la discriminación de EC+ y EC-, mostrando que la conducta de congelamiento únicamente ocurría cuando el EC era la señal que anunciaba la presentación del estímulo aversivo cuando eran estimulados los receptores D2.

En cuanto a los modelos no condicionados Pérez de la Mora et al ; (2012), observó que el bloqueo de los receptores D2 con raclopride incrementó la conducta de ansiedad en la prueba de enterramiento defensivo, mientras que no se observaron cambios en el laberinto elevado en forma de cruz, ni en el campo abierto. El mismo resultado fue obtenido por Rezayof et al. (2009), en el laberinto elevado quien al administrar sulpiride en el CeA no observó cambios sobre la ansiedad. Sin embargo, por su parte Bananej et al. (2012), y Zarrindast et al. (2011b), pertenecientes al mismo laboratorio, reportaron que los receptores D2 en el BLA tienen un papel ansiogénico en el laberinto elevado. En contraste con lo anterior, en el estudio de Zarrindast et al. (2011a), la administración de sulpride aumentó la conducta de ansiedad en el laberinto elevado, cuando el fármaco fue administrado en una región que pudiera corresponder al CeA de acuerdo con las coordenadas estereotáxicas usadas.

Tabla 2 Modulación de los receptores D2-like amigdalinos y sus efectos sobre la conducta de ansiedad experimental. Modificado de Pérez de la Mora et al., 2010 y Zarrindast, 2015.

Fármaco	Sitio de la inyección y dosis empleada	Modelo conductual empleado	Efectos	Tipo de efecto	Referencia
Sulpride (antagonista D2-like)	BLA 0.1, 0.3, 0.5 µg/rata	Laberinto levado en forma de signo más	Incrementó el porcentaje de tiempo y entradas a los brazos abiertos	Ansiolítico	(Bananej et al., 2012)
Quinpirol (agonista D2-like)	BLA 0.01, 0.03, 0.05 µg/rata	Laberinto levado en forma de signo más	Disminuyó el porcentaje de tiempo en brazos abiertos	Ansiogénico	(Bananej et al., 2012)
Eticlopride (Antagonista D2)	CeA 1 µg/lado	Congelamiento condicionado	Atenuó la conducta de congelamiento	Ansiolítico	(Guarraci et al., 2000)
Sulpride (antagonista D2-like)	Amígdala 1, 1.5, 2, 3 µg/rata	Laberinto levado en forma de signo más	Disminuyó el porcentaje de tiempo y de entradas a brazos abiertos	Ansiogénico	(Zarrindast et al., 2011a)
Sulpride (antagonista D2-like)	BLA 1, 2 µg/lado	Sobresalto potenciado por miedo	Disminuyó sobresalto potenciado por miedo	Ansiolítico	(de Oliveira et al., 2011)

Sulpride (antagonista D2-like)	BLA 3, 5 µg/rata	Laberinto levado en forma de signo más	Aumentó el porcentaje de tiempo y de entradas a brazos abiertos	Ansiolítico	(Zarrindast et al., 2011b)
Raclopride (antagonista D2-like)	BLA 2 y 8 µg/lado	Sobresalto potenciado por miedo	Bloqueó sobresalto potenciado por miedo	Ansiolítico	(Greba, Gifkins y Kokkinidis, 2001)
Raclopride (antagonista D2-like)	CeA 0.75, 2 y 4 µg/lado	Enterramiento defensivo	Incrementó el tiempo de enterramiento en la prueba de enterramiento defensivo	Ansiogénico	(Perez de la Mora et al., 2012)
Raclopride (antagonista D2-like)	CeA 0.75, 2 y 4 µg/lado	Laberinto levado en forma de signo más y campo abierto	Sin cambios en la conducta en LEM y CA	Sin efectos en la conducta de ansiedad	(Perez de la Mora et al., 2012)
Raclopride (antagonista D2-like)	CeA 0.5 µg/lado	Miedo generalizado	Indujo la generalización de la respuesta de congelamiento condicionado	Ansiogénico	(De Bundel et al., 2016)
Sulpride (antagonista D2-like)	CeA 0.5 – 1.5 µg/rata	Laberinto levado en forma de signo más	No produjo cambios en el porcentaje tiempo ni entradas en brazos abiertos.	Sin cambios en la conducta de ansiedad experimental	(Rezayof, Hosseini y Zarrindast, 2009)

Capítulo 5. Planteamiento del problema, objetivo e hipótesis

5.1. Planteamiento del problema

Dado que los estudios realizados en torno al papel de los receptores dopaminérgicos D2 en la modulación amigdalina de la ansiedad incondicionada ha resultado sumamente contradictoria y los efectos sobre ella han sido obtenidos en un número limitado de modelos y usando prácticamente solo antagonistas para este receptor, consideramos de interés conocer los efectos que resultan de la estimulación farmacológica directa de estos receptores empleando un modelo conductual diferente.

5.2. Objetivos

Objetivo general

Determinar el papel de los receptores dopaminérgicos D2 amigdalinos en la ansiedad de rata.

Objetivo específico

Evaluar el efecto conductual de la administración bilateral intra amigdalina de un agonista de los receptores dopaminérgicos D2 en la prueba de enterramiento defensivo.

5.3. Hipótesis

La estimulación directa de los receptores dopaminérgicos D2 provocada por la administración bilateral de quinpirol en el núcleo central de la amígdala de la rata provocará efectos ansiolíticos en la prueba del enterramiento defensivo.

Capítulo 6. Materiales y método

6.1. Animales

Se utilizaron 46 ratas macho de la cepa Wistar de 250 a 260 g en el momento de la cirugía (ver Tabla 3). Las ratas fueron criadas en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular y se hospedaron bajo condiciones controladas de temperatura (22° C) y luz (ciclo luz/oscuridad de 12:12 h con la luz prendida a las 7:00 am). Los animales fueron mantenidos con agua y alimento (Purina chow) *ad libitum*. Los experimentos fueron realizados de acuerdo con la guía establecida por el comité de ética mexicana de acuerdo con la “National Institutes of Health publication 80-23, 1996”.

Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a cuatro grupos de estudio, los cuales se muestran en la tabla 3.

Tabla 3 Número total y distribución de las ratas empleadas en los experimentos conductuales.

Grupo	Número de ratas
a) Grupo control (NaCl 0.9%).	14
b) Quinpirol 0.075 µg/lado + NaCl 0.9%	10
c) Quinpirol 0.15 µg/lado + NaCl 0.9%	9
d) Quinpirol 0.3 µg/lado + NaCl 0.9%	13
Total de ratas empleadas	46

6.2. Sustancias químicas

El quinpirol fue adquirido de Sigma Aldrich, St. Louis Missouri, USA. La ketamina (Anesket) así como la xilacina fueron adquiridos de la empresa Pisa Agropecuaria, Atalaque, Hgo; México.

6.3. Cirugía estereotáxica

Previo a la implantación de las cánulas guía en el núcleo central de la amígdala, las ratas fueron anestesiadas mediante la administración simultánea de ketamina (170 mg/kg) y xilacina (0.26 mg/kg) por vía intraperitoneal. Una vez que las ratas fueron anestesiadas se colocaron en un aparato estereotáxico con la barra incisora ajustada a -3.3 mm. Posteriormente, se realizó una incisión cutánea para localizar el bregma, que sirvió como punto de referencia para la implantación de las cánulas guía (C315G, Plastics One, Roanoke, Va, USA). Dichas cánulas poseían un diámetro exterior de 0.46 mm y estaban dirigidas bilateralmente hacia el CeA. Las coordenadas utilizadas fueron AP -2.12 mm, ML +- 4.2 mm, DV -7.6 de acuerdo al atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1986). La temperatura corporal de las ratas fue mantenida a 37° C usando un controlador de temperatura CMA/150 (CMA/Microdialysis, Stockholm, Sweeden) Para evitar el desprendimiento de las cánulas guía estas se fijaron con la ayuda de tornillos de acero inoxidable y con acrílico dental.

6.4. Microinyección

Mediante una bomba de Microdiálisis (CMA/Microdialysis, Stockholm, Sweeden) el día del experimento se realizó la administración de los fármacos. Se administró solución salina, en el caso del grupo control o diferentes dosis de quinpirol en el caso de los grupos experimentales. El volumen administrado a los animales de todos los grupos fue de 250 nanolitros por lado con un flujo de 64 nl/min utilizando

cánulas de inyección que poseían un diámetro externo de 0.20 mm (C315I, Plastics One). Las cánulas inyectoras fueron introducidas en las cánulas guía sobresaliendo 1 mm de ellas. Las cánulas de inyección permanecieron 1 minuto en su sitio después de la inyección con la intención de evitar el reflujo de las sustancias administradas y permitir su difusión. Las observaciones conductuales fueron iniciadas inmediatamente después del tratamiento.

6.5. Pruebas conductuales

Todas las pruebas conductuales fueron realizadas en el Instituto de Fisiología Celular entre las 11 am y 5 pm en una cámara sonoro-amortiguada en ausencia del experimentador.

6.6. Prueba de enterramiento defensivo

Después de 5 días de recuperación de la cirugía las ratas fueron habituadas al experimentador diariamente por un lapso de cuatro días. La prueba conductual se llevó a cabo usando luz roja con una intensidad de 2.3 luxes. El procedimiento conductual se llevó a cabo en una caja elaborada con material acrílico y con medidas de 27x16x23 cm. El suelo de la caja fue cubierto con una cama de aserrín de 5 cm. En una de las paredes de la caja, 2 cm por encima de la cama de aserrín se colocó un electrodo de 7 cm de largo y 0.5 cm de ancho, el cual generaba una descarga eléctrica de 0.4 mA cada vez que la rata tenía contacto con él. Al inicio de la prueba la rata se colocó en el extremo opuesto al electrodo y se le dejó explorar la caja libremente por un lapso de 10 minutos a partir del primer choque eléctrico. La conducta de los animales fue video-grabada para su posterior evaluación. Durante la evaluación de la conducta los parámetros registrados fueron el tiempo total que pasó la rata enterrando el electrodo, la latencia al primer episodio de enterramiento tras recibir el primer choque eléctrico y el número de choques recibidos.

6.7. Prueba de locomoción

Con el objetivo de descartar que los efectos del quinpirol en la prueba de enterramiento se debieran a una influencia del fármaco en la actividad locomotora de los animales estos se sometieron a la prueba de campo abierto inmediatamente después de la prueba de ansiedad. La prueba de campo abierto se realizó usando luz blanca con una intensidad de 138 luxes y se realizó utilizando una caja de madera 50x50x40 cm cuyo piso estaba dividido en 16 cuadrados de 10x10 cm. Al principio de la prueba se colocó a la rata en una de las esquinas viendo hacia el centro de la caja y se dejó explorar libremente durante 5 minutos. La conducta de la rata fue video grabada para su posterior evaluación. Durante la evaluación se contabilizó el número de veces que la rata cruzó con las cuatro patas cada una de las líneas que formaban los cuadrados.

6.8. Histología

Una vez que se realizaron las pruebas conductuales los animales fueron sacrificados en una cámara de CO₂. Los cerebros fueron removidos y fijados en una solución de formaldehído al 10%. Los cerebros fueron crioprotegidos siendo sumergidos en concentraciones crecientes de sacarosa (10%, 20% y 30%) al menos durante 24 hrs en cada concentración. Ya crioprotegidos los cerebros, se obtuvieron rebanadas coronales de 40 μ m de grosor mediante un criostato (CM 1510-3, Leica Instruments, Nussloch, Germany), que fueron montados en un porta objetos de vidrio. Los cortes fueron teñidos con violeta de cresilo y se les colocó un cubre objetos usando una solución de permount como agente montador. La posición de las cánulas fue registrada mediante la observación de las secciones teñidas usando un microscopio estereoscópico (EZ 4HD Leica Instruments, Nussloch, Germany).

6.9. Análisis estadístico

Debido a que la prueba Kolmogorov- Smirnov indicó que varios de los parámetros conductuales no seguían una distribución normal, la estadística utilizada para evaluar los resultados fue no paramétrica. Así, se usó la prueba Jonckheere-Terpstra para alternativas ordenadas seguida de la prueba *post hoc* de Dunn. La significancia estadística se estableció en todos los casos con una $P < 0.05$. La prueba Kolmogorov- Smirnov y el análisis *post hoc* se realizaron con la ayuda del software GraphPad Prisma 6, mientras que la prueba Jonckheere-Terpstra se realizó con la ayuda del software IBM SPSS 21.

Capítulo 7. Resultados

7.1. Histología

Las trayectorias seguidas por las cánulas usadas para inyectar el quinpirol dentro de la CeA puede observarse en la Figura 10.

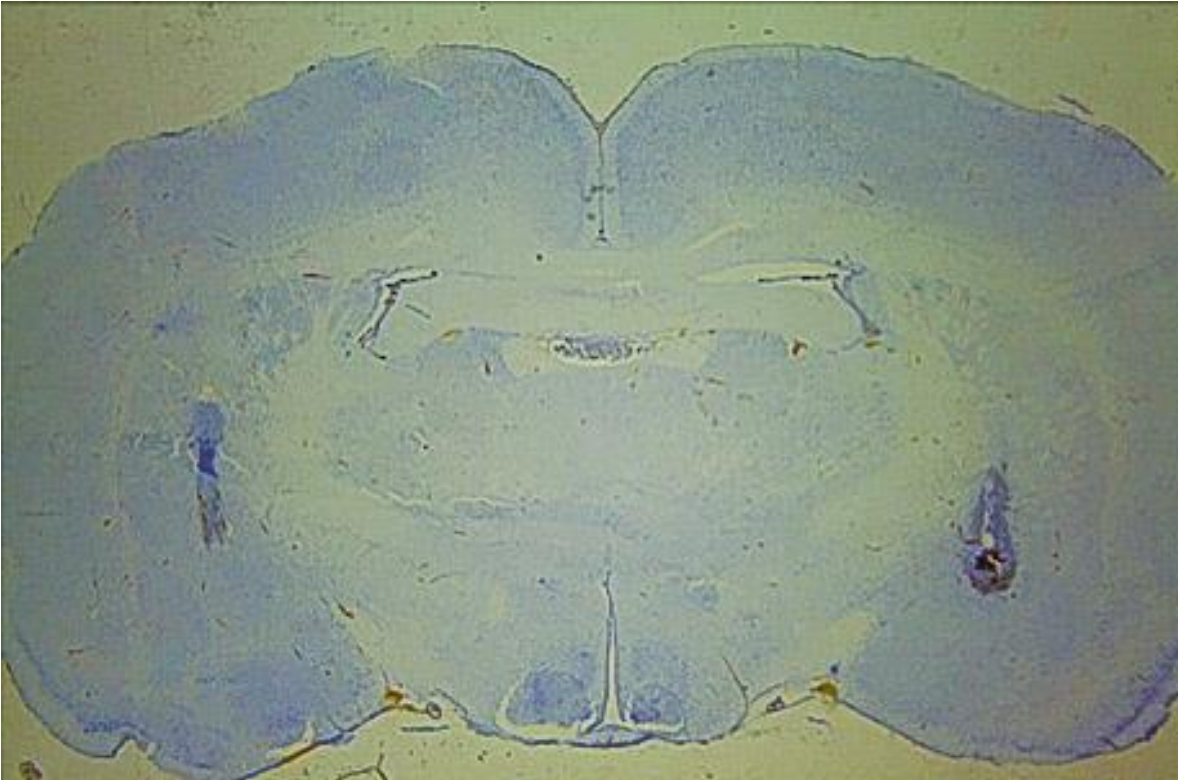


Figura 10 Corte coronal representativo teñido con violeta de cresilo, en donde se puede apreciar los sitios de inyección del quinpirol en el CeA.

Como puede observarse en la Figura 11 los sitios de inyección tanto de la solución salina como del quinpirol estuvieron indistintamente localizados topográficamente dentro de la amígdala entre -1.80 a -3.14 mm del bregma, de acuerdo con el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1986), concentrándose la mayor parte de ellos entre -2.3—2.8 mm del bregma. Las ratas empleadas para el análisis estadístico fueron aquellas en las que ambas cánulas se situaron en el núcleo central de la amígdala.

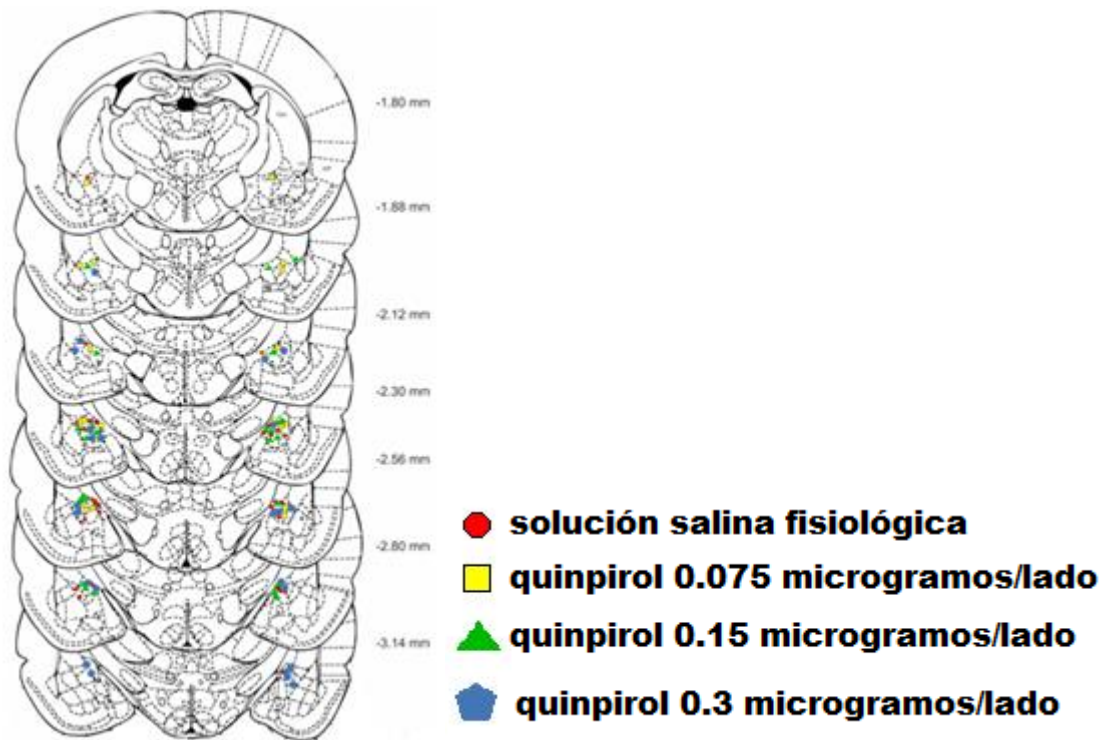


Figura 11 Representación topográfica de los sitios de inyección de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (1986). Debido a la proximidad de los sitios de inyección algunos de ellos se encuentran sobrepuestos.

7.2. Enterramiento defensivo

7.2.1. Tiempo total de enterramiento

La administración bilateral de quinpirol en el núcleo central de la amígdala provocó una disminución dosis-dependiente en el tiempo de enterramiento alcanzándose significancia estadística con respecto al grupo control a la dosis de 0.3 μg del fármaco por lado (J-T statistics 235.000, $P < 0.05$). El tiempo total de enterramiento es el parámetro conductual principal de la prueba de enterramiento defensivo (De Boer and Koolhaas, 2003; Treit et al., 1981) por lo que estos resultados indican que la estimulación bilateral de los receptores D2 en el núcleo central de la amígdala provocó efectos ansiolíticos en las ratas que fueron sometidas a esta prueba conductual

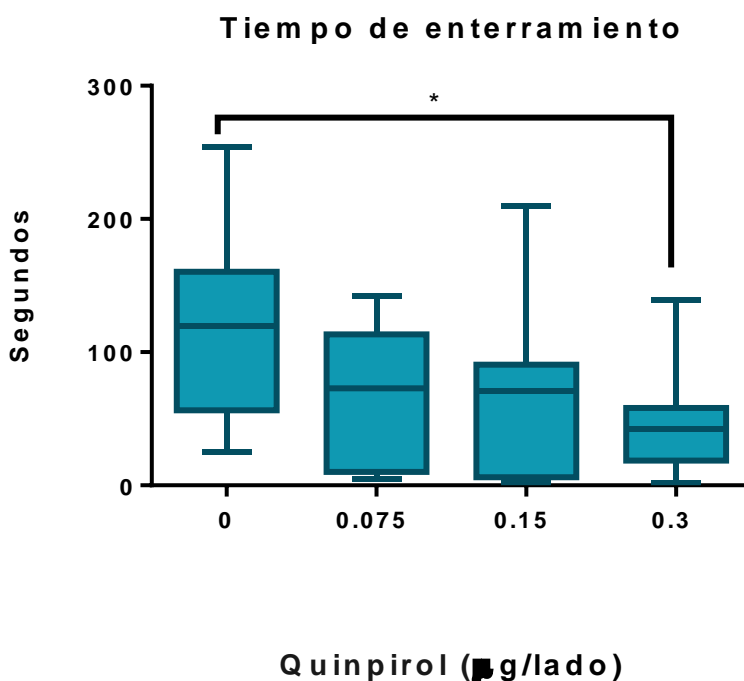


Figura 12 Efecto de la administración bilateral del quinpirol sobre el tiempo de enterramiento en la prueba del enterramiento defensivo (Media \pm E.E.M.). El quinpirol provocó una disminución dosis dependiente en el tiempo de enterramiento N 9-14 por grupo. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Jonckheere-Terpstra seguido del análisis *post hoc* Prueba de Dunn (J-T statistics 235.000, $P < 0.05$).

7.2.2. Latencia de enterramiento

Como puede observarse en la Figura 13 no se encontraron efectos del quinpirol sobre la latencia al enterramiento (tiempo que transcurre desde que la rata recibe el primer choque eléctrico hasta el inicio del enterramiento). (J-T statistics 475.000, $P > 0.05$). La latencia de enterramiento ha sido considerada como una medida de la reactividad del animal (Perez de la Mora et al., 2012).

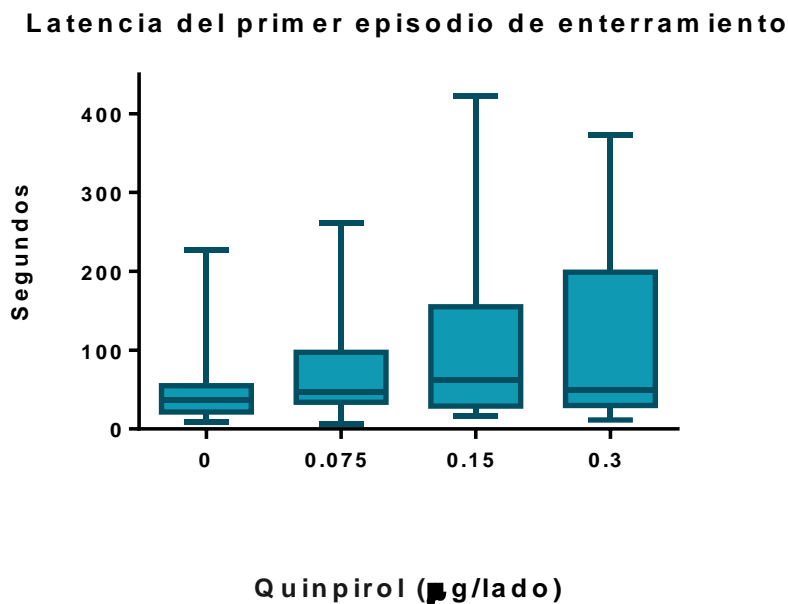


Figura 13 Efecto de la administración bilateral del quinpirol sobre la latencia de enterramiento en la prueba del enterramiento defensivo (Media \pm E.E.M.). N 9-14 por grupo. No se observaron efectos estadísticamente significativos del quinpirol sobre esta medida. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Jonckheere-Terpstra (J-T statistics 475.000, $P > 0.05$).

7.2.3. Número de aproximaciones al electrodo

En la Figura 14 se muestra que la administración bilateral intra CeA de quinpirol no modificó el número de aproximaciones de la rata hacia el electrodo utilizado en la prueba del enterramiento defensivo con respecto al control (J-T statistics 475.000 $P > 0.05$).

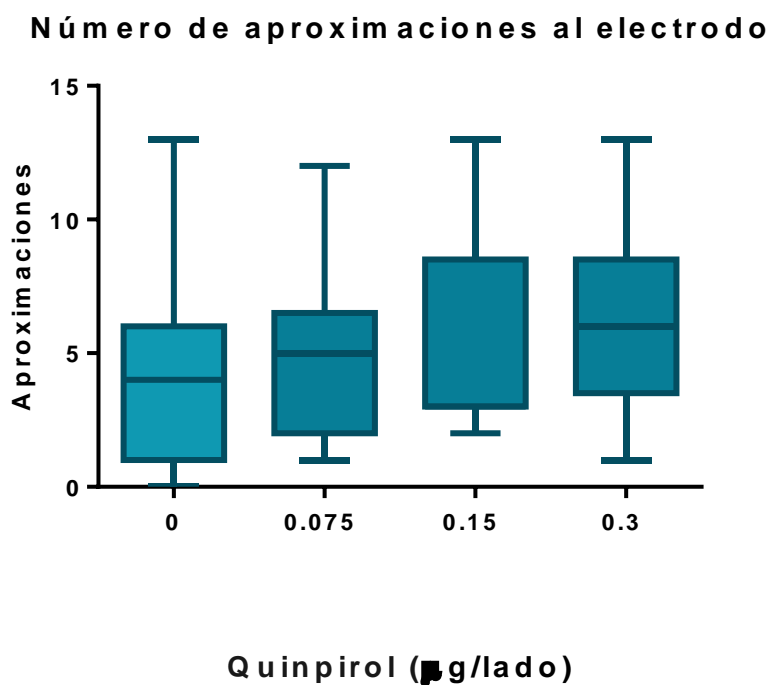


Figura 14 Efecto de la administración bilateral del quinpirol sobre el número de aproximaciones al electrodo en la prueba del enterramiento defensivo (Media \pm E.E.M.). N 9-14 por grupo. No se observaron efectos estadísticamente significativos del quinpirol sobre esta medida. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Jonckheere-Terpstra (J-T statistics 475.000 $P > 0.05$).

7.2.4. Número total de choques

En la Figura 15 se muestra que la administración bilateral de quinpirol incrementó el número de choques que las ratas recibieron durante la prueba (J-T statistics 506.000), observándose efectos significativos con respecto al control a una dosis de 0.15 μg por lado. Sin embargo, dicho efecto no se observó cuando la dosis del quinpirol fue aumentada al doble.

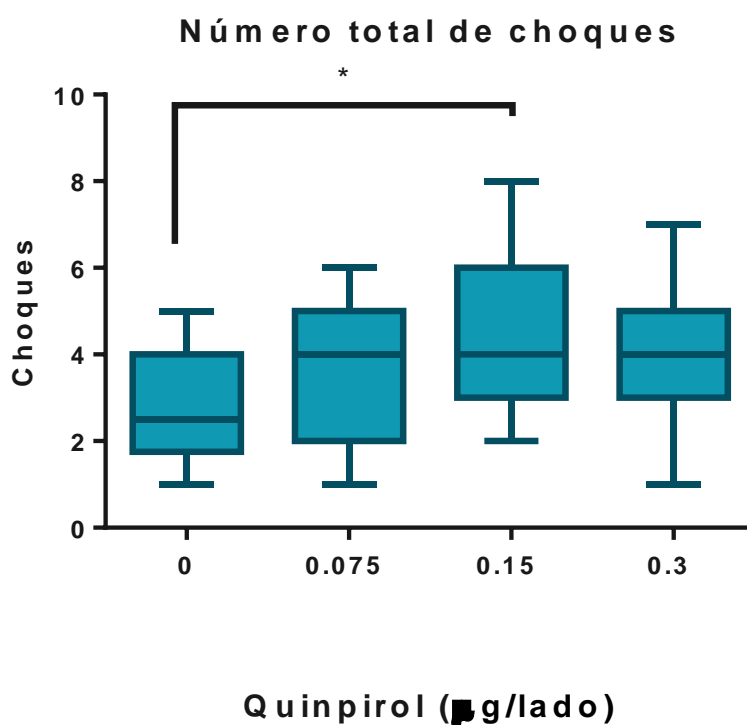


Figura 15 Efecto de la administración bilateral del quinpirol sobre el número total de choques en la prueba del enterramiento defensivo (Media \pm E.E.M.). N 9-14 por grupo. El quinpirol provocó una disminución dosis dependiente en el número de choques. N 9-14 por grupo. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Jonckere-Terpstra seguido del análisis *post hoc* Prueba de Dunn (J-T statistics 506.000).

7.2.5. Reacción conductual ante los choques

Como puede verse en la figura 16 ninguna de las dosis empleadas modificó la reacción conductual de las ratas ante los choques (J-T statistics 350.000 P> 0.05).

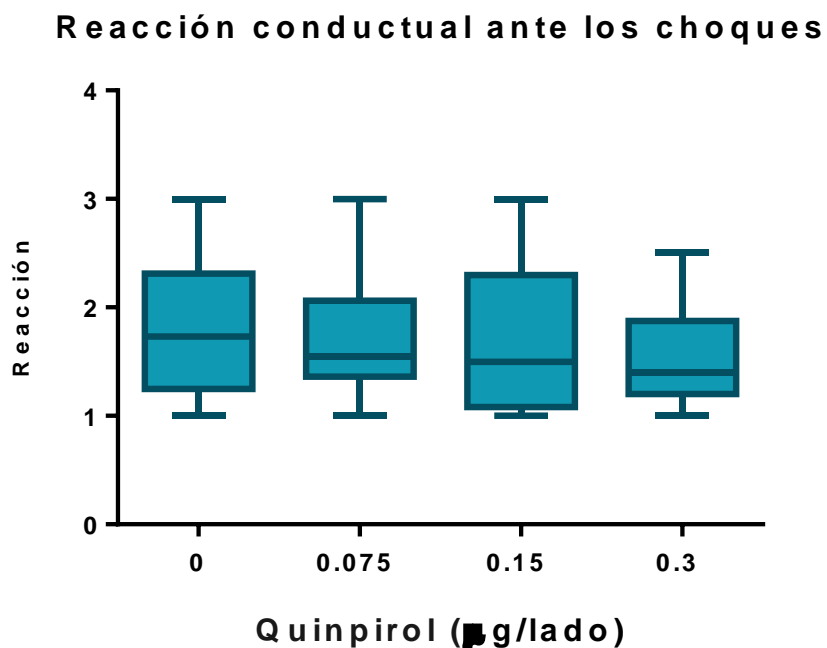


Figura 16 Efecto de la administración bilateral del quinpirol sobre la reacción conductual a los choques en la prueba del enterramiento defensivo (Media ± E.E.M.). N 9-14 por grupo. No se observaron efectos estadísticamente significativos del quinpirol sobre esta medida. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Jonckheere-Terpstra (J-T statistics 350.000 P> 0.05).

7.3. Locomoción

Como puede apreciarse en la figura 17 no se observaron cambios significativos en la locomoción de las ratas en el campo abierto con ninguna de las dosis de quinpirol utilizadas en este trabajo (J-T statistics 364.000 $P > 0.05$). Esto indica que el efecto producido por el quinpirol sobre la conducta de enterramiento no se debe a alguna alteración en la capacidad locomotora de las ratas.

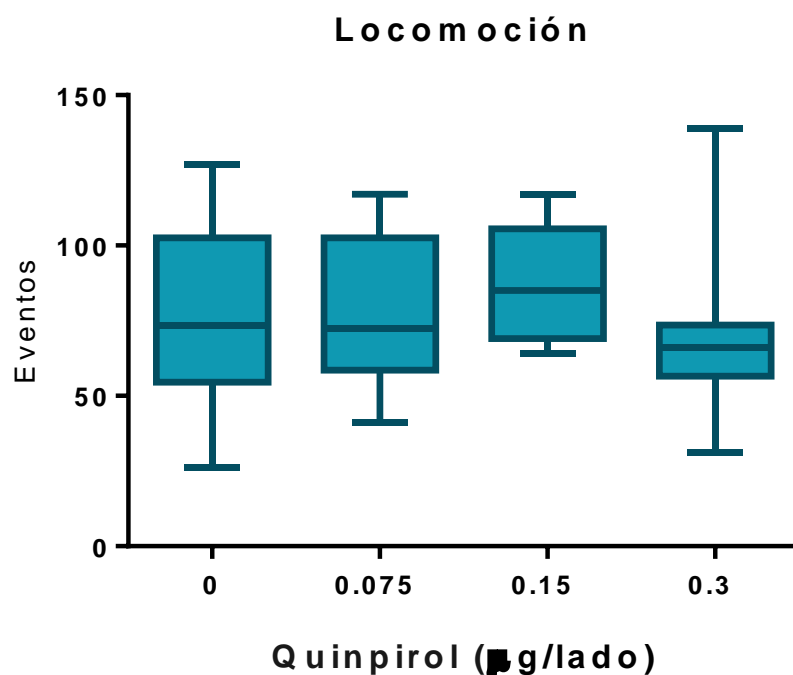


Figura 17 Efecto de la administración bilateral del quinpirol sobre la locomoción en la prueba del campo abierto (Media \pm E.E.M.). N 9-14 por grupo. No se observaron efectos estadísticamente significativos del quinpirol sobre esta medida. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Jonckheere-Terpstra (J-T statistics 364.000 $P > 0.05$).

Capítulo 8. Discusión

Como se señaló en la Introducción de este trabajo de tesis el sistema dopaminérgico a través de la activación de sus receptores D1 y D2 juega un papel importante en la modulación amigdalina de la ansiedad (Pérez de la Mora et al., 2010, Pezze and Feldon, 2004). Sin embargo, aunque el papel de los receptores D1 parecería estar relativamente bien aclarado tanto en modelos condicionados como no condicionados, en donde repetidamente se ha encontrado que en ambos modelos dichos receptores ejercen efectos ansiogénicos (Guarraci et al., 1999; Lamont and Kokkinidis, 1998; Pérez de la Mora et al., 2005), existen dudas con respecto al papel de los receptores D2 y en particular en torno a su participación en la modulación amigdalina de la ansiedad no condicionada. Así, mientras que en modelos condicionados los estudios realizados señalan que el bloqueo de los receptores D2 es congruente también con una participación ansiogénica de tales receptores (Greba et al., 2001; Guarraci et al., 2000) y con la discriminación de los estímulos condicionados (De Bundel et al., 2016) y por consiguiente con la modulación de la de la saliencia y la valencia emocional de los estímulos (Love, 2014), en modelos no condicionados los efectos resultantes de dicho bloqueo parecen depender del modelo utilizado y diferir incluso cuando se utiliza un mismo modelo, i.e. el laberinto elevado en forma de signo de “+” (Perez de la Mora et al., 2012; Zarrindast et al., 2011a).

Con base en lo anterior el objetivo de este trabajo fue determinar la naturaleza de los efectos de la administración intramigdalina de quinpirol, un agonista de los receptores D2, en el núcleo central de la amígdala utilizando un modelo de ansiedad no condicionada con características diferentes a las del laberinto elevado en forma de signo “+”(Pérez de la Mora et al., 2010; Pesold and Treit, 1995) como lo es el paradigma del enterramiento defensivo ó “Shock-Probe Burying Test”, como se le ha dado en llamar más recientemente en inglés.

Nuestros resultados muestran, por primera vez, que la estimulación bilateral directa, con ahora un agonista de los receptores D2, en el CeA provoca una disminución

estadísticamente significativa del enterramiento del electrodo que se usa en esta prueba. Más aun dichos efectos se produjeron en forma dosis-dependiente alcanzando su máximo efecto tras la infusión de una dosis de 0.3 µg/ lado. Cabe señalar, que en congruencia con lo anterior, dichos efectos no fueron acompañados de un aumento en el número de aproximaciones de la rata hacia el electrodo electrificado y de que solo fueron eventualmente acompañados, por un aumento de conductas de congelamiento. Por otro lado, aunque paradójicamente se observó una tendencia hacia el alza en la latencia para el inicio del enterramiento los resultados no resultaron significativos.

Dado que el tiempo total de enterramiento es el parámetro conductual principal de la prueba del enterramiento defensivo (De Boer and Koolhaas, 2003; Treit et al., 1981) nuestros resultados, manifestados por una disminución en el tiempo de este parámetro sugieren que la estimulación farmacológica bilateral de los receptores D2 en el núcleo central de la amígdala produce la aparición de efectos ansiolíticos en las ratas sometidas a este paradigma.

Cabe señalar,, que a pesar de que esta prueba, por su naturaleza, es muy sensible a cambios en la locomoción y al umbral/tolerancia al dolor que experimentan los animales al recibir los choques eléctricos, es poco probable que la disminución del enterramiento observado en nuestros experimentos obedezca a efectos provocados por el quinpirol sobre estos parámetros, pues en ellos, no se observaron cambios ni en la conducta en el campo abierto, que sugiere una falta de efectos sobre la locomoción inducidos por el quinpirol, ni en la reactividad del animal a los choques eléctricos, manifestada esta, por su escasa reacción conductual inmediatamente después de recibir el choque eléctrico y la falta de cambios en la latencia al enterramiento que se considera una medida de la reactividad del animal a los choques (Treit, 1985b). En línea con lo anterior, no se observaron tampoco efectos sobre el número de choques recibidos a la dosis a la que se observó el efecto máximo del quinpirol sobre el tiempo de enterramiento.

Nuestros resultados coinciden con los encontrados por Pérez de la Mora et al., (2012) utilizando también el enterramiento defensivo, pero bajo condiciones de

bloqueo de los receptores D2 en la amígdala y con los de Zarrindast et al. (2011a) en el Laberinto Elevado en forma de signo de “+” pero difieren con los reportados por Greba et al. (2001) y Guarraci et al. (2000) en los paradigmas de congelamiento condicionado y sobresalto potenciado por miedo. Es interesante, sin embargo, que resultados reportados publicados por el grupo de Zarrindast han mostrado efectos ansiolíticos (Zarrindast et al., 2011b) o incluso ningún efecto (Rezayof et al., 2009) en el laberinto elevado tras el bloqueo de los receptores D2 en la amígdala. La causa de estas diferencias es difícil de explicar, pero es posible que en ella además de las diferencias neurobiológicas inherentes a cada paradigma existan diferencias experimentales entre los diversos grupos de investigadores que incluyen la cepa de las ratas empleadas, así como las características de la inyección que determinan tanto el grado de difusión de los fármacos utilizados como las regiones amigdalinas alcanzadas. En relación a esto resulta interesante que en experimentos optogenéticos en donde se estimularon diversas regiones del núcleo basolateral, los resultados obtenidos dependieron del grupo de neuronas principales estimulados (Tye et al., 2011).

Por otro lado, aun cuando el quinpirol también tiene afinidad por el subtipo de receptores dopaminérgicos D3 es difícil que estos receptores hayan tenido alguna participación en los resultados mostrados en este trabajo debido a que estos solo se localizan en el BLA (Gurevich and Joyce, 1999) y su bloqueo tiene un efecto ansiolítico en la caja luz/oscuridad y el laberinto elevado en forma de signo “+” (Diaz., 2011).

Numerosas evidencias experimentales han demostrado que los autorreceptores son receptores que responden al neurotransmisor que una determinada neurona libera y que modifican, al actuar sobre ellos, su propia liberación (Ford, 2014). Más aún, para el caso de las neuronas dopaminérgicas dichos receptores corresponden al subtipo D2 y su estimulación resulta en una inhibición de la síntesis y liberación de la dopamina (Bahena-Trujillo et al., 2000; Neve et al., 2004). Es posible, entonces, que el efecto ansiolítico del quinpirol observado en este trabajo se haya debido, no a efectos postsinápticos directos, sino a la estimulación de autoreceptores

localizados en las terminales dopaminérgicas de la amígdala. Bajo estas condiciones, los efectos ansiolíticos descritos en este trabajo serían provocados por la falta de estimulación de receptores D1 ansiogénicos (Pérez de la Mora et al., 2005) debida a la inhibición de la liberación de dopamina producida. Cabe señalar, que a pesar de lo atractivo que resulta esta explicación, no parecen existir en realidad tales autoreceptores dopaminérgicos en la amígdala pues Margolis et al., (2008) fueron incapaces de encontrar una disminución en la liberación de dopamina dentro de la amígdala cuando los receptores D2 eran estimulados y De Bundel et al., (2016) por su parte, demostró que los receptores D2 dentro de la amígdala están presentes post-sinápticamente en neuronas del CeL, que también expresan PKC δ , un marcador de neuronas GABAérgicas en esta región (Ciocchi et al., 2010; Haubensak, 2010).

Resulta interesante que a diferencia de lo que ocurre en modelos condicionados (Pérez de la Mora et al., 2010), en donde los receptores dopaminérgicos D2 parecerían tener un papel ansiogénico, en nuestros experimentos, usando el modelo del enterramiento defensivo, un modelo no condicionado de ansiedad, los receptores D2 parecerían ejercer el efecto opuesto. La razón de estas diferencias es poco clara pero sugiere, de que en contra de la teoría en boga, desarrollada en modelos condicionados, y que postula que el flujo de información es líneal (BLA hacia CeA) (LeDoux, 2000), en el enterramiento defensivo y muy probablemente en otros modelos no condicionados este flujo sigue una vía paralela como ha sido postulado por Everitt y sus colegas (2003). Más aún, dado que la porción lateral del CeA tiene un papel prominente en la regulación del dolor somático (Bernard, Huang, and Besson, 1992), es posible que dicha vía involucre primordialmente al CeA y no al BLA que carece prácticamente de receptores D2 (Pérez de la Mora et al., 2012).

Por otro lado, es posible que la activación de receptores D2 dentro del CeM, que como se ha señalado antes es la salida ansiogénica de la amígdala resulte en una hiperpolarización de neuronas espinosas medianas de naturaleza GABAérgicas (Hernández-López et al., 2000) con la consiguiente supresión de salidas ansiogénicas inhibitorias de la amígdala.

Por otro lado, recientemente se le ha conferido a la oxitocina un papel importante en la modulación de la ansiedad (Baskerville and Douglas, 2010) y en particular la modulación amigdalina (Huber, Veinante, and Stoop, 2005; Knobloch et al., 2012; Stoop, 2012; Viviani et al., 2010). Se han encontrado, asimismo, interacciones reciprocas entre los receptores D2 y los oxitocinérgicos tanto en el núcleo accumbens (Romero-Fernandez et al., 2012) como en la amígdala (de la Mora et al., 2016). Dado que dichas interacciones son facilitatorias (Liu and Wang, 2003; Romero-Fernandez et al., 2012) y tienen carácter ansiolítico es posible que en los efectos ansiolíticos que resultan de la activación de los receptores D2 reportados en este trabajo (de la Mora et al., 2016) estén involucradas dichas interacciones. En apoyo a esta posibilidad, cabe señalar que tanto los receptores D2 como los oxitocinérgicos están colocalizados en neuronas GABAérgicas en el CeL (Ciocchi et al., 2010; De Bundel et al., 2016; Fuxe et al., 2012; Haubensak, 2010; Stoop et al., 2015) y que la activación de estas neuronas suprime la salida ansiogénica de la amígdala (Huber et al., 2005; Stoop, 2012; Viviani et al., 2010).

Capítulo 9. Conclusión

Los resultados de este trabajo de tesis proporcionaron información importante acerca del papel que juegan los receptores D2 en la modulación amigdalina de la ansiedad. El quinpirol, un agonista de los receptores dopaminérgicos D2, administrado bilateralmente en el CeA tuvo un efecto ansiolítico en la prueba de ansiedad denominada “enterramiento defensivo”. Nuestros resultados, obtenidos mediante el uso del quinpirol, que estimula directamente a los receptores D2, confirman el papel ansiolítico de este receptor en la misma prueba, pero obtenido indirectamente mediante el uso de antagonista.

Aunque el mecanismo que subyace a los efectos ansiolíticos que resultan de la activación de los receptores D2 en la amígdala se desconoce es posible que estén involucradas diferentes vías neuronales cuya información sería modulada diferencialmente por los receptores D2 en CeA.

Por otro lado, es factible, que los efectos ansiolíticos encontrados en este trabajo resulten de una interacción facilitadora, a nivel membranar, entre receptores D2 y receptores oxitocinérgicos ocurrida en el CeA. Queda para el futuro discernir cuál si una o ambas posibilidades son correctas.

Referencias

- Abraham, A. D., Neve, K. A., and Lattal, K. M. (2014). Neurobiology of Learning and Memory Dopamine and extinction : A convergence of theory with fear and reward circuitry. *Neurobiology of Learning and Memory*, 108, 65–77.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.11.007>
- Alfredo, J. (2002). Modelos animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica, 25(1).
- Alheid, G. F. (1988). New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: The striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substancia innominata. *Neuroscience*, 27(1), 1–39.
- Asan, E. (1997). Ultrastructural features of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive afferents and their targets in the rat amygdala. *Cell Tissue Research*, (288), 449–469.
- Ashford, J., and Jones, B. J. (1976). The effects of intra-amygdaloid injections OF 6-hydroxy- Dopamine on avoidance responding in rats. *Br. J. Pharmacol*, 255–261.
- Baas, J. M. P., Milstein, J., Donlevy, M., and Grillon, C. (2006). Brainstem correlates of defensive states in humans. *Biological Psychiatry*, 59(7), 588–593.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.09.009>
- Bahena-Trujillo, R., Flores, G., and Arias-Montaña, J. a. (2000). Dopamina : síntesis , liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Revista Biomédica*, 11(1), 39–60.
- Bananej, M., Karimi-Sori, A., Zarrindast, M. R., and Ahmadi, S. (2012). D1 and D2 dopaminergic systems in the rat basolateral amygdala are involved in anxiogenic-like effects induced by histamine. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 26(4), 564–74. <https://doi.org/10.1177/0269881111405556>
- Barry J. Everitt, Rudolf N. Cardinal, John A Parkinson, and T. W. R. (2003). Impact of amygdala-dependent mechanisms of amotional learning. *Ann N Y Acad Sc*, 9(985), 233–250.
- Baskerville, T. a., and Douglas, A. J. (2010). Dopamine and Oxytocin Interactions

- Underlying Behaviors: Potential Contributions to Behavioral Disorders. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 16(3), e92–e123. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00154.x>
- Baxter, a J., Vos, T., Scott, K. M., Ferrari, a J., and Whiteford, H. a. (2014). The global burden of anxiety disorders in 2010. *Psychological Medicine*, (JANUARY), 1–12. <https://doi.org/10.1017/S0033291713003243>
- Beaulieu, J., Espinoza, S., and Gainetdinov, R. R. (2015). NC-IUPHAR REVIEW Dopamine receptors – IUPHAR Review 13. *British Journal of Pharmacology*, 172(1), 1–23. <https://doi.org/10.1111/bph.12906>
- Beaulieu, J., and Gainetdinov, R. R. (2011). The Physiology , Signaling , and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacological Review*, 63(1), 182–217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642.182>
- Beaulieu, J. M., Sotnikova, T. D., Marion, S., Lefkowitz, R. J., Gainetdinov, R. R., and Caron, M. G. (2005). An Akt/-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. *Cell*, 122(2), 261–273. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.012>
- Bello, E. P., Mateo, Y., Gelman, D. M., Noaín, D., Shin, J. H., Low, M. J., Rubinstein, M. (2011). Cocaine supersensitivity and enhanced motivation for reward in mice lacking dopamine D 2 autoreceptors. *Nature Neuroscience*, 14(8), 1033–1038. <https://doi.org/10.1038/nn.2862>
- Bernard, J. F., Huang, G. F., and Besson, J. M. (1992). Nucleus centralis of the amygdala and the globus pallidus ventralis: electrophysiological evidence for an involvement in pain processes. *Journal of Neurophysiology*, 68(2), 551–69. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1527575>
- Bourin, M., Petit-Demoulière, B., Dhonnchadha, B. N., and Hascöet, M. (2007). Animal models of anxiety in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 21(6), 567–574. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00526.x>
- Brent Myers, C. Mark Dolgas, John Kasckow, William E. Cullinan, and J. P., and Herman. (2014). Central stress-integrative circuits: Forebrain glutamatergic and GABAergic projections to the dorsomedial hypothalamus, medial preoptic area, and bed nucleus

of the stria terminalis. *Brain Struct Funct*, 219(4), 1287–1303.

<https://doi.org/10.1007/s00429-013-0566-y>.Central

Bull, D. R. (1991). Characterization of dopamine autoreceptors in the amygdala: a fast cyclic voltammetric study in vitro. *Neuroscience Letters*, 134, 41–44.

Bupesh, M., Abellán, A., and Medina, L. (2011). Genetic and experimental evidence supports the continuum of the central extended amygdala and a multiple embryonic origin of its principal neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 519(17), 3507–3531. <https://doi.org/10.1002/cne.22719>

Calhoon, G. G., and Tye, K. M. (2015). Resolving the neural circuits of anxiety. *Nature Neuroscience*, 18(10), 1394–1404. <https://doi.org/10.1038/nn.4101>

Cassell, M. D., Gray, T. S., and Kiss, J. Z. (1986). Neuronal architecture in the rat central nucleus of the amygdala: a cytological, hodological, and immunocytochemical study. *The Journal of Comparative Neurology*, 246(4), 478–499. <https://doi.org/10.1002/cne.902460406>

Ciocchi, S., Herry, C., Grenier, F., Wolff, S. B. E., Letzkus, J. J., Vlachos, I., Lu, A. (2010). Encoding of conditioned fear in central amygdala inhibitory circuits. *Nature*, 468(V), 277–284. <https://doi.org/10.1038/nature09559>

Contreras, C. M., Rodríguez-landa, J. F., Gutiérrez-garcía, A. G., Morales, B. B., and Saavedra, M. (2003). El estudio experimental de la ansiedad y la depresión. *Ciencia*, 29–39.

Dahlström, A., and Fuxe, K. (1964). Evidence for the Existence of Monomamine-Containing Neurons in the Central Nervous System. *Acta Physiologica Scandinavica, Suppl(232)*, 1–55. <https://doi.org/10.1007/BF00160582>

Davis, M., and Whalen, P. J. (2001). The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular Psychiatry*, 6(1), 13–34. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000812>

De Boer, S. F., and Koolhaas, J. M. (2003). Defensive burying in rodents: Ethology, neurobiology and psychopharmacology. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 145–161. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01278-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01278-0)

De Boer, S. F., Slangen, J. L., and Van der Gugten, J. (1990). Plasma catecholamine and

- corticosterone levels during active and passive shock-prod avoidance behavior in rats: Effects of chlordiazepoxide. *Physiology and Behavior*, 47(6), 1089–1098. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90357-A](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90357-A)
- De Bundel, D., Zussy, C., Espallergues, J., Gerfen, C. R., Girault, J.-A., and Valjent, E. (2016). Dopamine D2 receptors gate generalization of conditioned threat responses through mTORC1 signaling in the extended amygdala. *Molecular Psychiatry*, (August 2015), 1–9. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.210>
- De Kloet, E. R., Joëls, M., and Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(6), 463–475. <https://doi.org/10.1038/nrn1683>
- de la Mora, M. P. (2007). La amígdala una estructura anatómica con relevancia para la ansiedad. In R de Celis (Ed). *Investigacion en neurociencias. Homenaje al Dr. Alfredo Feria Velazco*. (pp 169-175)
- de la Mora, M. P., Pérez-Carrera, D., Crespo-Ramírez, M., Tarakanov, A., Fuxe, K., and Borroto-Escuela, D. O. (2016). Signaling in dopamine D2 receptor-Oxytocin receptor heterocomplexes and its relevance for the anxiolytic effects of dopamine and oxytocin interactions in the amygdala of the rat. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.07.004>
- de Oliveira, A. R., Reimer, A. E., Macedo, C. E. A. De, Carvalho, M. C. De, Silva, M. A. D. S., and Brandao, M. L. (2011). Conditioned fear is modulated by D2 receptor pathway connecting the ventral tegmental area and basolateral amygdala. *Neurobiology of Learning and Memory*, 95(1), 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.10.005>
- Debiec, J. and Joseph L. (2004). Fear and the Brain. *Blood Pressure*, 71(4), 807–819.
- Deutch, A. Y., Tam, S. Y., and Roth, R. H. (1985). Footshock and conditioned stress increase 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the ventral tegmental area but not substantia nigra. *Brain Research*, 333(1), 143–146. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90134-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90134-9)
- Diamant, M., Croiset, G., and Dewied, D. (1992). The Effect of Corticotropin-Releasing Factor (Crf) on Autonomic and Behavioral-Responses during Shock-Prod Burying Test in Rats. *Peptides*, 13(6), 1149–1158.

- Diaz, M., Chappell, A., Christian, D., Anderson, N., and McCool, B. (2011). Dopamine D3-receptors modulate anxiety-like Behavior and Regulate GABAergic Transmission in the Rat Lateral/Basolateral Amygdala. *Neuropsychopharmacology*, 36(5), 1090–1103. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.246>.Dopamine
- DSM-5. (2013) (5th editio). Washington, DC: American Pionsychiatric Assosiat.
- Duvarci, S., and Pare, D. (2014). Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron*, 82(5), 966–980. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.04.042>
- Ehrlich, I., Humeau, Y., Ciochi, S., Herry, C., and Lu, A. (2009). Review Amygdala Inhibitory Circuits and the Control of Fear Memory. *Neuron*, 62, 757–771. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.026>
- Eliava, M., Yilmazer-Hanke, D., and Asan, E. (2003). Interrelations between monoaminergic afferents and corticotropin-releasing factor-immunoreactive neurons in the rat central amygdaloid nucleus: Ultrastructural evidence for dopaminergic control of amygdaloid stress systems. *Histochemistry and Cell Biology*, 120(3), 183–197. <https://doi.org/10.1007/s00418-003-0557-9>
- Engin, E., and Treit, D. (2008). The effects of intra-cerebral drug infusions on animals' unconditioned fear reactions: A systematic review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(6), 1399–1419. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.03.020>
- Fallon, J. H., Koziell, D. A., and Moore, R. Y. (1978). Catecholamine Innervation of the Basal Forebrain. *J. Comp. Neur*, 180, 509–532.
- Ford, C. P. (2014). Review the role of D2- autorreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission. *Neuroscience*, 282, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.01.025>
- Ford, C. P., Gantz, S. C., Phillips, P. E. M., and Williams, J. T. (2010). Control of extracellular dopamine at dendrite and axon terminals. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(20), 6975–83. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1020-10.2010>
- Fuxe, K., Borroto-Escuela, D. O., Romero-Fernandez, W., Ciruela, F., Manger, P., Leo, G.,

- Agnati, L. F. (2012). On the role of volume transmission and receptor-receptor interactions in social behaviour: Focus on central catecholamine and oxytocin neurons. *Brain Research*, 1476, 119–131.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.01.062>
- Greba, Q., Gifkins, A., and Kokkinidis, L. (2001). Inhibition of amygdaloid dopamine D2 receptors impairs emotional learning measured with fear-potentiated startle. *Brain Research*, 899(1–2), 218–226. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02243-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02243-0)
- Griebel, G., and Holmes, A. (2013). 50 Years of Hurdles and Hope in Anxiolytic Drug Discovery. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 12(9), 667–87.
<https://doi.org/10.1038/nrd4075>
- Guarraci, F. a, Frohardt, R. J., Falls, W. a, and Kapp, B. S. (2000). The effects of intra-amygdaloid infusions of a D2 dopamine receptor antagonist on Pavlovian fear conditioning. *Behavioral Neuroscience*, 114(3), 647–651.
<https://doi.org/10.1037/0735-7044.114.3.647>
- Guarraci, F. a, Frohardt, R. J., and Kapp, B. S. (1999). Amygdaloid D1 dopamine receptor involvement in Pavlovian fear conditioning. *Brain Research*, 827, 28–40.
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(99\)01291-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(99)01291-3)
- Gungor, N. Z., and Pare, D. (2016). Functional Heterogeneity in the Bed Nucleus of the Stria Terminalis. *Journal of Neuroscience*, 36(31), 8038–8049.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0856-16.2016>
- Gurevich, E. V., and Joyce, J. N. (1999). Distribution of dopamine D3 receptor expressing neurons in the human forebrain comparison with D2 receptor expressing neurons. *Neuropsychopharmacology*, 20(1), 60–80. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00066-9](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00066-9)
- Haubensak, W. (2010). Genetic dissection of an amygdala microcircuit that gates conditioned fear. *Nature*, 468(November 2015), 270–278.
<https://doi.org/10.1038/nature09553>
- Heinze, G. (2003). La ansiedad: Cómo se le concibe actualmente. *Ciencia*, 54(2), 8–15.
- Hernandez-Lopez, S., Tkatch, T., Perez-Garci, E., Galarraga, E., Bargas, J., Hamm, H.,

- Surmeier, D. J. (2000). D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca²⁺ currents and excitability via a novel PLC β 1-IP3-calcineurin-signaling cascade. *J Neurosci*, 20(24), 8987–8995. <https://doi.org/20/24/8987> [pii]
- Holmes, M. M. (2002). Defensive behavior and hippocampal cell proliferation differential modulation by naltrexone during stress. *Behav. Neurosci*, 116, 160–168. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Huber, D., Veinante, P., and Stoop, R. (2005). Vasopressin and oxytocin excite distinct neuronal populations in the central amygdala. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5719), 245–248. <https://doi.org/10.1126/science.1105636>
- Inglis, F. M., and Moghaddam, B. (1999). Dopaminergic Innervation of the Amygdala Is Highly Responsive to Stress. *Journal of Neurochemistry*, 1088–1094.
- Johnston, J. B. (1923). Further contributions to the study of the evolution of the forebrain. *The Journal of Comparative Neurology*, 35(5), 337–481. <https://doi.org/10.1002/cne.900350502>
- Keifer, O. P., Hurt, R. C., Ressler, K. J., and Marvar, P. J. (2015). The Physiology of Fear : Reconceptualizing the Role of the Central Amygdala in Fear Learning. *Physiology*, 30(78), 389–401. <https://doi.org/10.1152/physiol.00058.2014>
- Keshavarzi, S., Power, J. M., Albers, E. H. H., Sullivan, R. K. S., and Sah, P. (2015). Dendritic Organization of Olfactory Inputs to Medial Amygdala Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 35(38), 13020–13028. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0627-15.2015>
- Kim A. Neve, Christopher P. Ford, David C. Bucka, David K. Grandy, R. L., and Neve, and T. J. P. (2013). Normalizing Dopamine D2 Receptor-Mediated Responses in D2 Null Mutant Mice by Virus-Mediated Receptor Restoration: Comparing D2L and D2S. *Neuroscience*, 17, 479–487. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.06.035>.Normalizing
- Knobloch, H. S., Charlet, A., Hoffmann, L., Eliava, M., Khrulev, S., Cetin, A., Grinevich, V. (2012). Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear response. *Neuron*, 73(3), 553–566. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.030>

- Korte and Bela Bohus. (1990). The effect of ipsapirone on behavioural and cardiac responses in the shock-probe / defensive burying test in rome rats. *Statistics*, 181, 307–310.
- Korte, S. M., Bouws, G. a H., Koolhaas, J. M., and Bohus, B. (1992). Neuroendocrine and behavioral responses during conditioned active and passive behavior in the defensive burying/probe avoidance paradigm: Effects of ipsapirone. *Physiology and Behavior*, 52(2), 355–361. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(92\)90284-9](https://doi.org/10.1016/0031-9384(92)90284-9)
- Krettek, E., and Price, J. L. (1978). Amygdaloid Projections to Subcortical Structures within the Basal Forebrain and Brainstem in the Rat and Cat. *J Comp Neurol*, 178, 225–254.
- Lamont, E. W., and Kokkinidis, L. (1998). Infusion of the dopamine D1 receptor antagonist SCH 23390 into the amygdala blocks fear expression in a potentiated startle paradigm. *Brain Research*, 795(1–2), 128–136. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00281-9](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00281-9)
- Ledoux, J. (2007). Primer The amygdala. *Current Biology*, 17(20), 868–874.
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion Circuits in the Brain. *Annual Review of Neuroscience*, 23(1), 155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.155>
- LeDoux, J. E., Iwata, J., Cicchetti, P., and Reis, D. J. (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 8(7), 2517–2529.
- Ledoux, J. E., Ruggiero, D. A., Forest, R., Stornetta, R., and Reis, D. J. (1987). Topographic organization of convergent projections to the thalamus from the inferior colliculus and spinal cord in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 264(1), 123–46. <https://doi.org/10.1002/cne.902640110>
- Lindgren, N., Usiello, A., Goiny, M., Haycock, J., Erbs, E., Greengard, P., Fisone, G. (2003). Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(7), 4305–4309.
- Liu, Y., and Wang, Z. X. (2003). Nucleus accumbens oxytocin and dopamine interact to

- regulate pair bond formation in female prairie voles. *Neuroscience*, 121(3), 537–544.
[https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00555-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00555-4)
- Lohse, M. J., Benovic, J. L., Codina, J., Caron, M. G., and Lefkowitz, R. J. (1990). beta-Arrestin: a protein that regulates beta-adrenergic receptor function. *Science*, 248(4962), 1547–50. <https://doi.org/10.1126/science.2163110>
- Londei, T., Valentini, A. M. V, and G. Leone, V. (1998). Investigative burying by laboratory mice may involve non-functional, compulsive, behaviour. *Behavioural Brain Research*, 94(2), 249–254. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00162-9](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00162-9)
- Luttrell, L. M., and Lefkowitz, R. J. (2002). The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. *Journal of Cell Science*, 115(Pt 3), 455–65. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.3.1185>
- Maltais. (2000). Cellular Colocalization Of Dopamine D1 mRNA And D2 Receptor In Rat Brain Using A D2 Dopamine Receptor Specific Polyclonal Antibody. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. and Biol. Psychiat.*, 24, 1127–1149.
- Marcellino, D., Frankowska, M., Agnati, L., Perez de la Mora, M., Vargas-Barroso, V., Fuxe, K., and Larriva-Sahd, J. (2012). Intercalated and paracapsular cell islands of the adult rat amygdala: A combined rapid-Golgi, ultrastructural, and immunohistochemical account. *Neuroscience*, 226, 324–347.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.08.067>
- Margolis, E. B., Mitchell, J. M., Ishikawa, J., Hjelmstad, G. O., and Fields, H. L. (2008). Midbrain Dopamine Neurons : Projection Target Determines Action Potential Duration and Dopamine D 2 Receptor Inhibition. *The Journal of Neuroscience*, 28(36), 8908–8913. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1526-08.2008>
- Marowsky, A., Yanagawa, Y., Obata, K., and Vogt, K. E. (2005). A Specialized Subclass of Interneurons Mediates Dopaminergic Facilitation of Amygdala Function. *Neuron*, 48, 1025–1037. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.10.029>
- McEwen, B. S., and Wingfield, J. C. (2010). What is in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. *Hormones and Behavior*, 57(2), 105–111.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2009.09.011>

- Medina-Mora, M. E., Borges, G., Benjet, C., Lara, C., and Berglund, P. (2007). Psychiatric disorders in Mexico: lifetime prevalence in a nationally representative sample. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 190, 521–528. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.106.025841>
- Munro, L. J., and Kokkinidis, L. (1997). Infusion of quinpirole and muscimol into the ventral tegmental area inhibits fear-potentiated startle: implications for the role of dopamine in fear expression. *Brain Research*, (746), 231–238.
- Neugebauer, Volker, Vasco Galhardo, Sabatino Maione, S. C. M. (2009). Forebrain Pain Mechanisms. *Brain Res Rev*, 60(1), 226–242. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.12.014>.Forebrain
- Neve, K. a, Seamans, J. K., and Trantham-Davidson, H. (2004). Dopamine receptor signaling. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 24(3), 165–205. <https://doi.org/10.1081/LRST-200029981>
- Palomares-Castillo, E., Hernández-Pérez, O. R., Pérez-Carrera, D., Crespo-Ramírez, M., Fuxe, K., and Pérez De La Mora, M. (2012). The intercalated paracapsular islands as a module for integration of signals regulating anxiety in the amygdala. *Brain Research*, 1476, 211–234. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.03.047>
- Pare, D., and Duvarci, S. (2012). Amygdala microcircuits mediating fear expression and extinction. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(4), 717–723. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.02.014>
- Pérez de la Mora, M., Gallegos-Cari, A., Arizmendi-García, Y., Marcellino, D., and Fuxe, K. (2010). Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: Structural and functional analysis. *Progress in Neurobiology*, 90(2), 198–216. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2009.10.010>
- Perez de la Mora, M., Gallegos-Cari, A., Crespo-Ramirez, M., Marcellino, D., Hansson, a. C., and Fuxe, K. (2012). Distribution of dopamine D 2-like receptors in the rat amygdala and their role in the modulation of unconditioned fear and anxiety. *Neuroscience*, 201, 252–266. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.10.045>
- Pérez de la Mora, M., Linda, C., Crespo-ramirez, M., Jacobsen, K., Malin, H., Agnati, L., and Fuxe, K. (2005). Anxiolytic effects of intra-amygdaloid injection of the D1

- antagonist SCH23390 in the rat. *Neuroscience Letters*, 377, 101–105.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.11.079>
- Pesold, C., and Treit, D. (1995). The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Brain Research*, 671(2), 213–221.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01318-C](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01318-C)
- Pezze, M. A., and Feldon, J. (2004). Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Progress in Neurobiology*, 74, 301–320.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.09.004>
- Pinel, J. P., and Treit, D. (1978). Burying as a defensive response in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92(4), 708–712.
<https://doi.org/10.1037/h0077494>
- Polanco, A. (2011). Modelos animales : Una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad Animal models : A review from three tests used in anxiety. *Suma Psicológica*, 18(2), 141–148.
- Ramsay, D. S., and Woods, S. C. (2014). Clarifying the roles of homeostasis and allostasis in physiological regulation. *Psychological Review*, 121(2), 225–247.
<https://doi.org/10.1037/a0035942>
- Rezayof, A., Hosseini, S. sadat, and Zarrindast, M. R. (2009). Effects of morphine on rat behaviour in the elevated plus maze: The role of central amygdala dopamine receptors. *Behavioural Brain Research*, 202(2), 171–178.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.03.030>
- Rodgers, R. J., Cao, B. J., Dalvi, a., and Holmes, a. (1997). Animal models of anxiety: An ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(3), 289–304. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X1997000300002>
- Rodrigues, S. M., Ledoux, J. E., and Sapolsky, R. M. (2009). The Influence of Stress Hormones on Fear Circuitry. *Annual Review of Neuroscience*, (32), 289–313.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135620>
- Romero-Fernandez, W., Borroto-Escuela, D. O., Agnati, L. F., and Fuxe, K. (2012). Evidence for the existence of dopamine d2-oxytocin receptor heteromers in the

ventral and dorsal striatum with facilitatory receptor–receptor interactions. *Molecular Psychiatry*, 2–3. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.103>

Sah, P., Faber, E. S. L., Armentia, M. L. D. E., and Power, J. (2003). The Amygdaloid Complex : Anatomy and Physiology. *Physiol. Rev.*, (83), 803–834. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2003>

Scibilia, R. J., Lachowicz, J. E., and Kilts, C. D. (1992). Topographic nonoverlapping distribution of D1 and D2 dopamine receptors in the amygdaloid nuclear complex of the rat brain. *Synapse (New York, N.Y.)*, 11(2), 146–154. <https://doi.org/10.1002/syn.890110208>

Senogles, S. (1994). The D2 Dopamine Receptor Isoforms Signal through Distinct Gi , Proteins to Inhibit Adenylyl Cyclase. *The Journal of Biomedical Chemistry*, 269(37), 23120–23127.

Shi, C., and Cassell, M. D. (1998). Somatosensory Cortex to the Rat Basolateral Amygdala Via the Parietal. *Journal of Comparative Neurology*, 491(May), 469–491. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9741478>

Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(3), 231–249.

Steimer, T. (2011). Animal models of anxiety disorders in rats and mice: Some conceptual issues. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 13(4), 495–506.

Stoop, R. (2012). Neuromodulation by Oxytocin and Vasopressin. *Neuron*, 76(1), 142–159. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.025>

Stoop, R., Hegoburu, C., and van den Burg, E. (2015). New Opportunities in Vasopressin and Oxytocin Research: A Perspective from the Amygdala. *Annual Review of Neuroscience*, 38(1), 369–388. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-033904>

Swanson, L. W., and Petrovich, G. D. (1998). What is the amygdala? *Trends in Neurosciences*, 21(8), 323–331. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(98\)01265-X](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(98)01265-X)

- Terlecki, L. J., Pinel, J. P. J., and Treit, D. (1979). Conditioned and unconditioned defensive burying in the rat. *Learning and Motivation*, 10(3), 337–350. [https://doi.org/10.1016/0023-9690\(79\)90037-7](https://doi.org/10.1016/0023-9690(79)90037-7)
- Treit, D. (1985). The inhibitory effect of diazepam on defensive burying: Anxiolytic vs. analgesic effects. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 22(1), 47–52. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(85\)90484-8](https://doi.org/10.1016/0091-3057(85)90484-8)
- Treit, D., and Fundytus, M. (1988). A comparison of buspirone and chlordiazepoxide in the shock-probe/burying test for anxiolytics. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 30(4), 1071–1075. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(88\)90141-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(88)90141-4)
- Treit, D., Pinel, J. P., and Fibiger, H. C. (1981). Conditioned defensive burying: a new paradigm for the study of anxiolytic agents. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 15(4), 619–626. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(81\)90219-7](https://doi.org/10.1016/0091-3057(81)90219-7)
- Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S.-Y., Fenno, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., Deisseroth, K. (2011). Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety. *Nature*, 471(7338), 358–62. <https://doi.org/10.1038/nature09820>
- Vertes, R. P. (2004). Differential Projections of the Infralimbic and Prelimbic Cortex in the Rat. *Synapse*, 51(1), 32–58. <https://doi.org/10.1002/syn.10279>
- Viviani, D., Terrettaz, T., Magara, F., and Stoop, R. (2010). Oxytocin enhances the inhibitory effects of diazepam in the rat central medial amygdala. *Neuropharmacology*, 58(1), 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.06.039>
- Wolfe, S. E., and Morris, S. J. (1999). Dopamine D 2 Receptor Isoforms Expressed in AtT20 Cells Differentially Couple to G Proteins to Acutely Inhibit High Voltage-Activated Calcium Channels. *Journal of Neurochemistry*, 73(6), 2375–2382.
- Yilmazer-Hanke, D., Eliava, M., Hanke, J., Schwegler, H., and Asan, E. (2016). Density of acetylcholine esterase (AChE) and tyrosine hydroxylase (TH) containing fibers in the amygdala of roman high- and low-avoidance rats. *Neuroscience Letters*, 632, 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.08.053>
- Zarrindast, M.-R. (2015). The Modulatory Role of Dopamine in Anxiety-like Behavior. *Arch. Iran Med.*, 18(9), 591–603.

Zarrindast, M. R., Mahboobi, S., Sadat-Shirazi, M.-S., and Ahmadi, S. (2011). Anxiolytic-like effect induced by the cannabinoid CB1 receptor agonist, arachydonilcyclopropylamide (ACPA), in the rat amygdala is mediated through the D1 and D2 dopaminergic systems. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 25(1), 131–140. <https://doi.org/10.1177/02698811110376688>

Zarrindast, M. R., Sroushi, A., Bananej, M., Vousooghi, N., and Hamidkhaniha, S. (2011). Involvement of the dopaminergic receptors of the rat basolateral amygdala in anxiolytic-like effects of the cholinergic system. *European Journal of Pharmacology*, 672(1–3), 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.09.168>