



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA LESIÓN DEL NÚCLEO RETICULAR DEL  
TÁLAMO SOBRE LA CONDUCTA DE ANSIEDAD EN  
RATAS**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**ERANDI VELÁZQUEZ MIRANDA**

**DIRECTOR:**

**DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL**

**México D.F. 2 de Junio de 2015**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Elvia y Arturo, por su amor y apoyo incondicional en todas mis decisiones y por su ayuda para alcanzar mis metas. Porque sus enseñanzas, comprensión y confianza han sido la base para mi desarrollo personal y profesional.

A mi hermana, Paulina, por su cariño y confianza. Por dejarme compartir con ella tantas cosas y ser la mejor amiga que siempre tendré.

Con amor y admiración, a Rodrigo, por ser una gran motivación en mi vida. Por todo el cariño, apoyo y comprensión, aún en los momentos en que sea difícil.

A Pam, Alex, Diego y Tom, por ser mis más entrañables amigos. Por siempre estar ahí.

A mi amigo, Tonatiuh, porque sin él tal vez no existiría este trabajo. Por ayudarme a encontrar el camino.

A los Doctores, Víctor Magdaleno y Alejandro Valdés, por abrirme las puertas de su laboratorio y del camino en esta increíble área de la ciencia. Por todo lo que me han enseñado.

A los amigos que he hecho en este camino, Rubén, Christopher, Gerónimo, Ale Hernández, Gerardo, Ale Díaz, Dieter, Neli, Adrián, Luis, Ana, Benjamín, Donají y todos los demás con quien he compartido buenos momentos.

## AGRADECIMIENTOS



INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA  
RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ



Se agradece el apoyo y espacio del Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación de la Dirección de Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz

De la misma forma se agradece el apoyo de la Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad (CCINSHAE), a través de la Beca PROBEI

Este trabajo fue realizado en colaboración con la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>7</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>10</b>
<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>12</b>
<b>1. Ansiedad .....</b>	<b>12</b>
1.1 Aproximaciones experimentales .....	12
1.2 <i>Neurobiología de la Ansiedad</i> .....	19
1.2.1 <b><i>Circuito amígdala-prefrontal</i></b> .....	19
1.2.2 <b><i>Sistemas de neurotransmisión</i></b> .....	23
<b>2. Núcleo Reticular del Tálamo (NRT).....</b>	<b>25</b>
2.1 <b>Complejos de Descargas Espiga Onda (DEO)</b> .....	27
2.2 <b>Propiedades neuroquímicas del NRT</b> .....	29
2.3 <b>NRT y atención selectiva</b> .....	30
2.4 <b>NRT y ansiedad</b> .....	32
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>35</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>36</b>
<b>OBJETIVO .....</b>	<b>37</b>
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>37</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
<i>Institución</i> .....	38

<i>Sujetos</i> .....	38
<i>Lista de Materiales</i> .....	39
<b>Variables</b> .....	40
<b>Variables dependientes</b> .....	40
<i>Variable independiente</i> .....	42
<b>Cirugías</b> .....	42
<i>Cirugía de ablativa del NRT</i> .....	42
<i>Cirugía estereotáxica</i> .....	43
<b>Registro EEG</b> .....	44
<b>Registro conductual</b> .....	45
<i>Prueba de CA</i> .....	45
<i>Prueba del LEC</i> .....	45
<i>Prueba de ED</i> .....	47
<i>Prueba de AS</i> .....	47
<i>Prueba de Laberinto en T</i> .....	48
<i>Diseño experimental</i> .....	49
<i>Experimentos</i> .....	50
<i>Análisis estadístico</i> .....	52
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>52</b>
<i>Histología</i> .....	53
<i>Modificaciones en la conducta motora</i> .....	54
<i>Análisis de la conducta en el LEC</i> .....	55
<b><i>Análisis de la conducta en el ED</i></b> .....	56
<b><i>Efecto de la lesión del NRT sobre la aversión al sabor</i></b> .....	58
<i>Análisis de la memoria espacial en el laberinto en T</i> .....	59
<i>Modificación de la actividad EEG</i> .....	60
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>62</b>

<i>Generalidades</i> .....	62
<i>Diferencias en la conducta motora</i> .....	63
<i>Modificación de la actividad EEG</i> .....	64
<i>La lesión del NRT no tiene efecto sobre la conducta de ansiedad</i> .....	65
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>68</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>69</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

DA	Dopamina
NAc	Núcleo accumbens
VTA	Área ventral tegmental
NRT	Núcleo reticular del tálamo
CA	Campo abierto
LEC	Laberinto elevado en cruz
ED	Enterramiento defensivo
AS	Prueba de aversión al sabor
EEG	Electroencefalograma
TC	Tálamo-cortical
CT	Cortico-talámico
BDZ	Benzodiazepinas
HHA	Hipotálamo-hipófisis-adrenal
Am	Amígdala
CPF	Corteza prefrontal
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
ISRS	Inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina
DEO	Descarga Espiga Onda
TOC	Trastorno Obsesivo Compulsivo
BUAP	Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
BA	Brazos abiertos
BC	Brazos cerrados
PC	Plataforma central
INPRFM	Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz



## RESUMEN

La ansiedad es una respuesta fisiológica considerada adaptativamente funcional ante estímulos que pueden ser peligrosos o amenazantes; sin embargo, la persistencia o prolongación de esta respuesta o una alteración en los mecanismos que la regulan pueden provocar el desarrollo de la patología de ansiedad y se ha propuesto que la atención selectiva hacia estímulos amenazantes provoca y/o mantiene un cuadro ansiógeno.

El sistema dopaminérgico es uno de los sistemas de neurotransmisión que ha sido implicado en la patología de ansiedad. Muchos estudios sobre el papel de la dopamina (DA) se han enfocado en, por ejemplo, el núcleo *accumbens* (NAc) que es parte del sistema mesolímbico que se origina del área ventral tegmental (VTA, por sus siglas en inglés); sin embargo, hay estructuras ricas en receptores dopaminérgicos poco estudiadas para este tema, como es el núcleo reticular del tálamo (NRT).

Estudios previos han permitido observar que la lesión bilateral de las células del NRT tiene efectos ansiolíticos; sin embargo, las lesiones que se han llevado a cabo fueron realizadas en ratas adultas jóvenes, además de que el tiempo desde la lesión hasta el día en el que los animales fueron sometidos a pruebas de ansiedad fue relativamente corto.

Por lo tanto, existe la necesidad de identificar el efecto de la lesión bilateral del NRT en etapas tempranas del desarrollo, sobre la conducta de ansiedad de ratas adultas.

Para conseguir este objetivo se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, a las cuales se les realizó una cirugía estereotáxica para la lesión bilateral del NRT en el día postnatal siete. Nueve meses después, los animales fueron sometidos a una batería de pruebas conductuales, con dos días de intervalo entre cada una de ellas: 1) Campo Abierto (CA), 2) Laberinto Elevado en Cruz (LEC), 3) Enterramiento defensivo (ED), 4) Aversión al sabor (AS) y 5) Laberinto en T. Posteriormente, se les realizó otra cirugía estereotáxica para la colocación de electrodos epidurales y llevar a cabo un registro electroencefalográfico (EEG).

Dentro de los resultados se observó que el grupo con lesión en el NRT presentó una disminución significativa del tiempo en movimiento con respecto al grupo Sham en la prueba de CA; sin embargo, esta disminución no está correlacionada con el tiempo de permanencia en los brazos del LEC. En el resto de las pruebas no se observaron diferencias significativas. En el registro EEG se observó que los animales lesionados presentaron un complejo similar a la descarga espiga-onda, con una duración promedio de dos segundos y una frecuencia de 7-11Hz; esta descarga se correlacionó con una conducta como de ausencia en los animales.

Como conclusión de este trabajo podemos decir que la lesión en el NRT en etapas tempranas del desarrollo no provoca efectos ansiolíticos observables en la conducta de los animales; sin embargo, induce cambios permanentes en la actividad EEG en la rata adulta, expresados en paroxismos que se correlacionan con detenimientos súbitos y posiblemente son éstos los que provocan las diferencias en el movimiento de los animales de cada grupo.

## INTRODUCCIÓN

El núcleo reticular del tálamo (NRT) es una fina capa de neuronas que ocupa una posición clave para las operaciones tálamo-corticales (TC) y cortico-talámicas (CT), ya que está localizado entre la cápsula interna y la lámina medular externa, donde los axones TC y CT se cruzan (Guillery y Harting, 2003) y envían colaterales para este núcleo. A través de esta circuitería, el NRT se encuentra en una posición estratégica para filtrar señales en una etapa temprana del procesamiento y entrada de la comunicación TC (Zikopoulos y Barbas, 2012), regulando los procesos de atención selectiva, destacando estímulos salientes y suprimiendo los irrelevantes (Zikopoulos y Barbas, 2007).

Estos procesos de atención selectiva están involucrados en la patología de ansiedad. Eventos que son biológicamente significativos captan la atención rápidamente; sin embargo, el mecanismo que subyace a este proceso no se ha comprendido completamente. La amígdala, estructura fundamental en el procesamiento de estímulos con carga emocional, tiene conexiones tanto con la corteza como con núcleos talámicos. Estas conexiones, junto con una vía hacia NRT, podrían dirigir la atención hacia estímulos emocionalmente salientes y acelerar su entrada a la corteza (Zikopoulos y Barbas, 2012).

Se ha propuesto que este mecanismo puede ser mediado por la neurotransmisión dopaminérgica, ya que se ha demostrado que la reducción o pérdida de dopamina en las neuronas del NRT tiene efectos ansiolíticos (Picazo et al., 2009).

En este trabajo se plantea el problema de que no se conoce el efecto de una lesión en una estructura fundamental para los circuitos TC y CT como es el NRT, en etapas tempranas del desarrollo, sobre la conducta de ansiedad en ratas adultas. Este trabajo propone la hipótesis de que una lesión en el NRT promueve efectos ansiolíticos en la conducta de las ratas.

## **ANTECEDENTES**

### **1. Ansiedad**

La ansiedad es un proceso que se caracteriza por una hipervigilancia persistente y una hiperactivación prolongada que parece ser resultado de la sobreestimación del potencial de amenaza de situaciones ambiguas (Sylvers, Lilienfeld y LaPrairie, 2010). Cuando se interpretan como amenazantes situaciones ambiguas cuyo contexto es similar a aquellas en las que existe el peligro se genera un estado de hipervigilancia y se presentan conductas ansiosas (Milad et al., 2009).

Existe la complejidad para diferenciar las conductas de ansiedad y miedo, por lo que han sido caracterizados como conceptos similares. Sin embargo, el miedo puede ser conceptualizado como la persistencia de respuestas de evitación aún cuando exista evidencia de la eliminación del objeto peligroso. En la patología de ansiedad se presenta aprensión pero, a diferencia del miedo, la fuente del peligro es desconocida o ambigua (Sylvers et al., 2010).

#### **1.1 Aproximaciones experimentales**

La teoría de Darwin ha servido como fundamento para el desarrollo del campo de la psicología comparada, en la que el comportamiento de los animales es estudiado para obtener conocimientos sobre los procesos neurales que subyacen al comportamiento en humanos (Cryan y Holmes, 2005).

Históricamente, la investigación en animales no-humanos, principalmente roedores, ha sido fundamental en los esfuerzos para entender los sistemas neurales que regulan emociones, cómo estos sistemas presentan disfunciones en condiciones patológicas y cómo pueden ser moduladas terapéuticamente (Cryan y Holmes, 2005), que sería imposible en humanos (Kumar, Bhat y Kumar, 2013).

No obstante, es imposible modelar completamente la ansiedad que se presenta en humanos en los animales, ni tampoco podremos saber con certeza si un animal se siente ansioso.

A pesar de que roedores y humanos comparten más del 90% de sus genes (Kumar et al., 2013), existen considerables diferencias anatómicas en cerebros de humano y roedor, como la corteza cerebral, por lo que ciertos aspectos de la sintomatología la enfermedad que se expresan en el humano son imposibles de modelar en animales; sin embargo, la corteza cerebral no actúa de forma aislada, sino que está íntimamente interconectada con estructuras subcorticales, bien conservadas en los mamíferos y organizadas estructuralmente de forma común en los cerebros de los vertebrados (Cryan y Holmes, 2005).

Con esta premisa se han propuesto criterios específicos para evaluar si un procedimiento experimental en un animal tiene validez como modelo de una enfermedad psiquiátrica. Estos mínimos requisitos para la validez de un modelo animal son: que sea «razonablemente análogo» a un trastorno humano en sus manifestaciones o sintomatología (Tabla 3); que provoque un cambio conductual que pueda ser monitoreado objetivamente; que produzca cambios conductuales que sean revertidos por las mismas modalidades de tratamiento que son efectivas en humanos; y que sea reproducible entre investigadores (Cryan y Holmes, 2005).

**Tabla 3. Cómo se pueden modelar los síntomas de los trastornos de ansiedad en roedores. Tomado de (Cryan y Holmes, 2005)**

SÍNTOMA	CÓMO SE PUEDE MODELAR EL SÍNTOMA EN EL ROEDOR
Evitación de lugares de donde el escape puede ser difícil (agorafobia)	Alta evitación de áreas expuestas y bien iluminadas
Aparición repentina de miedo intenso, frecuentemente con dificultad respiratoria y miedo de «volverse loco» (ataque de pánico)	Conducta de escape de un depredador
Ansiedad provocada por situaciones sociales, llevando a una conducta de evitación (fobia social)	Baja interacción social con congéneres desconocidos
Ansiedad provocada específicamente por un objeto de miedo, llevando a una conducta de evitación (fobia específica)	Aversión condicionada al sabor
Re-experiencia de un evento traumático, llevando a un incremento en la activación y evitación de estímulos asociados con el evento (trastorno de estrés post-traumático)	Aumento en la respuesta de <i>freezing</i> o congelamiento a una señal o contexto condicionados al miedo

Obsesiones que provocan ansiedad y compulsiones que reducen la ansiedad (trastorno obsesivo compulsivo)	Aumento en la conducta de enterramiento de canicas y acicalamiento excesivo
Dificultad para concertarse o mente en blanco (trastorno de ansiedad generalizada)	Deficiencias en la atención sostenida
Alteraciones del sueño/insomnio	Arquitectura normal del sueño (medida usando EEG)
Hiper-activación autonómica (taquicardia, sonrojo, sudoración y micción frecuente)	Medida radiotelemétrica de la dinámica del ritmo cardíaco durante la provocación de la ansiedad, como aumento en la hipertermia inducida por estrés
<i>Flashbacks</i> o escenas retrospectivas de eventos traumáticos	Deficiencias en la extinción de la memoria de miedo
Sesgo cognitivo hacia señales ambiguas o levemente amenazantes	Aumento del condicionamiento de miedo hacia una señal amenazante parcial
Mayor respuesta de sobresalto, particularmente en contextos amenazantes	Mayor respuesta de sobresalto a señales acústicas y mayor respuesta de sobresalto potenciado por miedo
Ansiedad por separación	Aumento de las vocalizaciones ultrasónicas en crías separadas de su madre
Sentimientos de perder el control o volverse loco durante un ataque de pánico	No pueden ser modelados

Posiblemente por la presión selectiva a la defensa de la depredación, los roedores tienen una aversión innata a espacios expuestos y bien iluminados; sin embargo, son especies naturalmente exploradoras y las tareas basadas en la exploración utilizan las tendencias conflictivas de acercamiento contra evitación de un área potencialmente peligrosa (Cryan y Holmes, 2005).



El área aversiva toma diferentes formas en diversas pruebas: brazos abiertos y elevados (LEC), arena/compartimento iluminado (prueba de luz/oscuridad) o el área central de un campo abierto iluminado (prueba de CA). En una sesión típica un roedor sin mutaciones y sin tratamiento farmacológico, se espera que evite estas áreas aversivas y prefiera quedarse en las zonas protegidas durante la mayor parte del tiempo de prueba (Cryan y Holmes, 2005).

Otra conducta que también es posible medir en los animales es la memoria espacial. Para ello se hace uso del Laberinto en T, el cual es un paradigma conductual donde hay un punto de elección con sólo dos alternativas. Esta prueba se basa en el principio de que los animales prefieren visitar el brazo que no ha sido visitado recientemente, lo cual implica que requieren recordar el último brazo visitado (Sharma, Rakoczy y Brown-Borg, 2010).

De la misma forma, para evaluar aprendizaje espacial, se coloca una recompensa en uno de los brazos y se realiza un entrenamiento del «brazo correcto»; posteriormente se rota el Laberinto, mientras todas las señales espaciales se mantienen igual (Sharma et al., 2010).

Por tanto, si un roedor entra en el nuevo brazo de la recompensa, se designa como haber usado una estrategia de “lugar”, mientras que aquellos roedores que entren en el brazo sin recompensa (haciendo la misma vuelta a la que se le entrenó) se designan como que utilizan la estrategia de “respuesta” (Sharma et al., 2010).

Otra conducta espontánea de los roedores que se puede medir y cuantificar es el enterramiento. Este comportamiento viene de sus ancestros salvajes, que forrajeaban por semillas, granos, insectos y otra comida que pudiera ser encontrada enterrada en la tierra o en hojas en su hábitat natural. Así también, los roedores salvajes llevan a cabo conductas de enterramiento cuando se enfrentan a depredadores como serpientes, con la función de alejarse o esconderse de tales depredadores (Njung'e y Handley, 1991).

La conducta de enterramiento de canicas se ve reducida con ansiolíticos como benzodiazepinas (BDZ) (Njung'e y Handley, 1991) por lo que el enterramiento ha sido considerado como un índice de ansiedad, especialmente en presencia de un estímulo nocivo. Una forma de medir la conducta de enterramiento es el uso de la prueba de «enterramiento de canicas» (Broekkamp, Rijk, Joly-Gelouin y Lloyd, 1986).

En este modelo, un patrón de canicas es distribuido en la superficie de una caja llena de aserrín y se contabiliza el número de canicas que son enterradas al menos dos tercios después de un tiempo específico.

Cada prueba para la medición de la conducta tipo ansiosa tiene sus peculiaridades y limitaciones y ninguna prueba provee un modelo ideal de ansiedad, ya que éste debería contar con tres tipos de validez que son: validez de apariencia, donde el modelo es fenotípicamente similar e implica que la respuesta observada debe ser idéntica a las respuestas conductuales y fisiológicas observadas en humanos; validez predictiva, que implica que el modelo debe ser sensible a agentes farmacológicos efectivos en la clínica y al contrario compuestos ansiógenos deben provocar los efectos opuestos; y validez de constructo, que se relaciona con la similitud entre el argumento teórico que subyace tanto al modelo animal como al comportamiento humano (Kumar et al., 2013).

De esta forma, la reducción o aumento de una conducta tipo ansiosa se puede manifestar de manera más clara con una batería de pruebas. La efectividad de la aplicación de una batería de pruebas conductuales está apoyada, además, en evidencia de que incluso entre las tareas basadas en la exploración ostensiblemente similares existen diferencias cualitativas, con cada prueba midiendo formas superpuestas pero parcialmente distintas de conductas relacionadas con la ansiedad (van Gaalen y Steckler, 2000).

La expresión de estas conductas de ansiedad, sin embargo, tienen un correlato neurobiológico, donde circuitos neuronales y estructuras específicas participan en su desarrollo y establecimiento, y cuyo conocimiento es importante para la explicación de hipótesis relacionadas con esta patología.

## **1.2 Neurobiología de la Ansiedad**

Los trastornos de ansiedad están caracterizados por una variedad de alteraciones de los sistemas neuroendocrinos, neuroanatómicos y de neurotransmisión, así como circuitos específicos como el circuito amígdala-prefrontal o el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) (Martin, Ressler, Binder y Nemeroff, 2010).

### **1.2.1 Circuito amígdala-prefrontal**

Las reacciones a situaciones amenazantes y las respuestas regulatorias subsecuentes son frecuentemente referidos como los procesos de abajo-arriba (*bottom-up*), es decir de estructuras subcorticales hacia la corteza, y de arriba-abajo (*top-down*), o de control cortical hacia núcleos profundos, respectivamente (Kim, Gee, Loucks, Davis y Whalen, 2011).

Las interacciones entre los procesos *bottom-up* y *top-down* son las que determinan la adaptabilidad de la conducta en una situación dada. Se cree que estas interacciones están dañadas en la patología de ansiedad, en donde existen deficiencias en los mecanismos de control de *top-down* o las reacciones *bottom-up* son tan potentes que incluso un sistema regulatorio funcional no puede controlar estas respuestas (Kim et al., 2011).

La amígdala (Am), parte del sistema límbico, es una estructura que reside en el lóbulo temporal la cual procesa estímulos externos biológicamente relevantes e inicia la respuesta conductual adecuada, asimismo se encarga de la expresión del miedo y agresión, además de conducta defensiva y la formación y recuperación de recuerdos relacionados al miedo (Martin et al., 2010). Una gran variedad de estudios de lesión y estimulación sugieren que el núcleo central de Am es el que organiza la activación de los componentes de ansiedad, debido a sus múltiples conexiones con áreas cerebrales responsables por la expresión conductual correspondiente (Tabla 2).

La Am también permite la modulación de la atención hacia estímulos biológicamente relevantes o aprendidos, a través de su plasticidad y de la regulación de sistemas sensoriales (Phelps y LeDoux, 2005). Una teoría acerca de la forma en que el cerebro prioriza estímulos no atendidos es que un estímulo relevante es detectado por la Am, cuyas conexiones con la corteza facilitan la atención y percepción (Phelps y LeDoux, 2005).

**Tabla 2. Conexiones neurales de amígdala (Am) para coordinar la respuesta conductual (Meyer y Quenzer, 2005)**

ÁREA CEREBRAL CON LA QUE CONECTA	EFECTO FISIOLÓGICO	COMPONENTE CONDUCTUAL
Hipotálamo lateral	Activación simpática	Aumento de la frecuencia cardíaca y presión arterial
Núcleo dorsal motor del Vago	Activación parasimpática	Micción, defecación
Núcleo paraventricular del hipotálamo	Liberación de la hormona adrenocorticotropa	Liberación de glucocorticoides (respuesta al estrés)
Área tegmental ventral, Locus coeruleus, Núcleo pendunculopontino	Activación de dopamina, norepinefrina, y acetilcolina	Comportamiento de alerta y vigilancia
Núcleo reticular	Aumento de los reflejos	Aumento de la respuesta de sobresalto
Sustancia gris periaqueductal	Detenimiento de la conducta	Congelamiento

Por otro lado gran cantidad de información apoya la teoría de que la corteza prefrontal (CPF) permite controlar reacciones automáticas a estímulos biológicamente relevantes. Además, se piensa que integra diversos niveles de información, necesarios para seleccionar una respuesta adecuada (Miller y Cohen, 2001).

Diferentes estudios sugieren que la CPF ejerce un efecto regulatorio sobre la respuesta de estructuras límbicas como la Am (Bishop, 2007) así como sobre el fenómeno conductual que la acompaña (Ochsner y Gross, 2005).

El circuito Am-CPF está principalmente involucrado en permitir las representaciones de la relevancia de estímulos y en promover los mecanismos de control *top-down* que inciden en los procesos atencionales (Bishop, 2007).

Se ha demostrado que la conectividad funcional de estas dos regiones está inversamente relacionada con la expresión de ansiedad (Kienast et al., 2008). Esta patología implica sistemas amigdalinos de detección de amenazas hiper-responsivos y una hipoactividad de las regiones prefrontales involucradas en el control *top-down* (Bishop, 2007).

De la misma forma, se ha resaltado el papel de la modulación amigdalina de la atención a través de estas proyecciones corticales para un mayor estado de alerta y atención cortical en situaciones ambiguas que podrían ser interpretadas como peligrosas o amenazantes (Phelps y LeDoux, 2005).

Así, la desregulación de este circuito ha estado relacionada con los procesos de atención sesgada dirigida hacia estímulos amenazantes (Mathews, Mackintosh y Fulcher, 1997) y de interpretación de estímulos ambiguos como amenazantes (Bishop, 2007).

Uno de los mecanismos propuestos por el cual se cree que funciona de manera adecuada este circuito, es la disminución de la respuesta amigdalina por parte de la CPF, a través de la activación de las neuronas del sistema del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés) del complejo basolateral de Am o las células intercaladas cercanas, las cuales inhiben la salida de respuesta del núcleo central de Am (Milad, Rauch, Pitman y Quirk, 2006).

### **1.2.2 *Sistemas de neurotransmisión***

Es conocida la participación del sistema GABAérgico en la génesis de la ansiedad. La disminución en las concentraciones de GABA induce un estado de ansiedad en los mamíferos, por lo tanto, los fármacos que modulan este sistema, principalmente las BDZ, son utilizados para el tratamiento de esta patología (Uusi-Oukari y Korpi, 2010).

La alta densidad de receptores a BDZ en la Am y otras estructuras del sistema límbico, que regulan la respuesta de ansiedad, puede ser un indicio sobre su función (Meyer y Quenzer, 2005).



Por otro lado, un neurotransmisor importante para la regulación de respuestas de miedo, estrés y ansiedad es la serotonina. A ésta se le ha asociado un papel relevante en los trastornos de ansiedad debido a la capacidad de los medicamentos denominados inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) para aliviar la sintomatología de estos trastornos en modelos animales, sugiriendo que el tono hiposerotoninérgico contribuye a los trastornos de ansiedad (Enman, Zhang y Unterwald, 2014).

A pesar de que la relación de la DA con la ansiedad no ha sido abarcada en su totalidad, el estudio de dicha relación podría indicar un mecanismo diferente para el desarrollo de la patología de la ansiedad, así como para su tratamiento, ya que algunos estudios han señalado al circuito dopaminérgico para la regulación del miedo y ansiedad (Pezze y Feldon, 2004).

Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han enfocado en estructuras del sistema mesolímbico que se origina del VTA; por ejemplo, el reservorio dopaminérgico del NAc, que ha sido implicado en procesos de codificación sensorial-motor (Wan y Swerdlow, 1996) así como de aprendizaje aversivo (Levita, Dalley y Robbins, 2002).

Asimismo, se ha observado que la inervación dopaminérgica del sistema nigroestriatal hacia la Am en situaciones estresantes participa en su activación (de la Mora, Gallegos-Cari, Arizmendi-García, Marcellino y Fuxe, 2010).

No obstante, existen estructuras, diferentes de las más estudiadas de la vía mesolímbica, que son ricas en receptores dopaminérgicos, como es el caso del NRT, el cual podría estar relacionado con la patología de la ansiedad, ya que se ha reportado que la reducción de DA en el NRT provoca efectos ansiolíticos (Picazo et al., 2009).

## **2. Núcleo Reticular del Tálamo (NRT)**

El NRT (Figura 1) es una fina capa de neuronas GABAérgicas conocidas por sus propiedades de tipo marcapaso que permiten la generación de ritmos de frecuencia cerebrales no patológicos como los husos de sueño y patológicos como las descargas espiga-onda, ya que ocupa una posición fundamental en los circuitos TC y CT (Pinault, 2004).

El NRT deriva del tálamo ventral y está enteramente compuesto de células GABAérgicas (Fuentealba y Steriade, 2005). Está localizado entre la cápsula interna y la lámina medular externa, donde los axones TC y CT se cruzan (Guillery y Harting, 2003) y envían colaterales para este núcleo, el cual tiene proyecciones hacia dos blancos talámicos: células tálamo-corticales e interneuronas locales, las cuales a su vez mandan aferencias también inhibitorias a las células TC (Ferrarelli y Tononi, 2010).

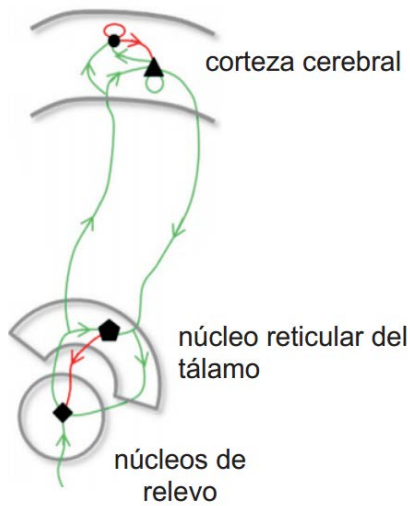


Figura 1. Se muestra el circuito cortico-talámico-cortical, de cuatro poblaciones neuronales: ▲ piramidales, ● interneuronas, ◆ reticulo-talámicas y ◆ relevo talámico-cortical y sus conexiones excitatorias (verde) glutamatérgicas e inhibitorias (rojo) GABAérgicas. (Modificado de Hindriks, Meijer, van Gils y van Putten, 2013).

Diferentes estudios han demostrado la existencia de por lo menos siete sectores en el NRT, cinco sensoriales (auditivo, gustativo, somatosensorial, visceral y visual), un motor y un límbico (Pinault, 2004). Cada sector tiene su propia organización anatómica, que está determinada por sus relaciones de aferencias y eferencias con los núcleos talámicos y áreas corticales correspondientes relacionadas de primer orden y alto orden (Guillery, Feig y Lozsádi, 1998).

## **2.1 Complejos de Descargas Espiga Onda (DEO)**

La red de interconexiones que forma el NRT con los circuitos TC y CT es particularmente adecuado para la generación de oscilaciones tipo huso (7-14 Hz) que aparecen característicamente durante las primeras etapas de sueño (Steriade, 2005). Los husos, registrados en la corteza, son generados en el NRT como una secuencia de espigas en ráfaga disparadas por entradas despolarizantes de la corteza (Ferrarelli y Tononi, 2010).

Las neuronas del NRT proyectan hacia los núcleos dorsales talámicos para inhibir mediante vías GABAérgicas a las neuronas TC. Los circuitos neuronales del NRT y TC conectados recíprocamente generan la actividad oscilatoria tipo huso (Beenhakker y Huguenard, 2009).

Cuando este tipo de actividad oscilatoria se convierte en patogénica se observa en descargas llamadas Espiga Onda (DEO), las cuales son una característica típica de la epilepsia de ausencia. La epilepsia de ausencia en rata se manifiesta como crisis no convulsivas recurrentes, caracterizadas por detenimiento conductual, mirada fija y movimientos clónicos de las vibrisas acompañados por DEO de alta amplitud a 7-11 Hz en el EEG (Danover, Deransart, Depauillis, Vergnes y Marescaux, 1998), especialmente con predominancia anterior. Son generalmente, pero no siempre, de corta duración 3 a 10 segundos y cuando terminan, tanto el EEG como el sujeto regresan a la normalidad (Bertram, 2013).

Se ha reportado que la lesión del NRT, tanto electrolítica como excitotóxica, en modelos experimentales con animales provoca oscilaciones sincrónicas y espontáneas, tipo descarga espiga-onda, asociadas conductualmente a inmovilidad y ligeros movimientos faciales. Estos patrones EEG y manifestaciones conductuales simulan lo observado durante crisis epilépticas de ausencia en humanos (Marini, Giglio, Macchi y Mancina, 1995).

Hasta ahora la teoría cortical es la explicación más aceptada; en ella se propone que la corteza cerebral es quién inicia el disparo y el tálamo es la estructura que mantiene la actividad oscilatoria (Figura 2).

Se ha propuesto que el NRT participa en el mantenimiento de la DEO debido a proyecciones GABAérgicas hacia núcleos talámicos de relevo provocando una hiper-polarización de éstas (Bertram, 2013).

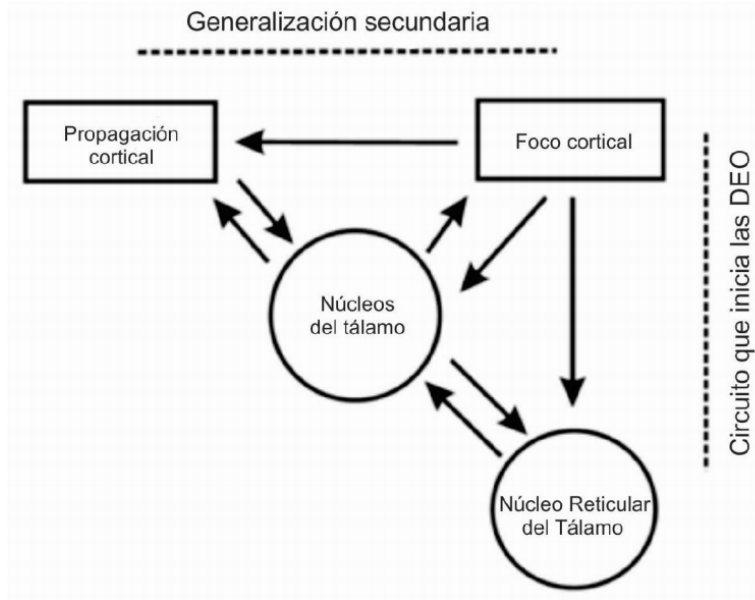


Figura 2. Esquema representativo del mecanismo que participa en la generación y mantenimiento de las DEO. Se presenta a la corteza como la zona que inicia la descarga patológica, al tálamo como un centro que realimenta las DEO y al NRT como el núcleo que participa en el mantenimiento (Modificada de Bertram, 2013).

## 2.2 Propiedades neuroquímicas del NRT

Las entradas TC y las entradas colaterales del circuito CT, que generan tanto los husos de sueño como los paroxismos patológicos en forma de DEO, son excitatorias glutamatergicas o de aspartato (Pinault, 2004).

El NRT expresa receptores tanto muscarínicos como nicotínicos, de acetilcolina (Beierlein, 2014) y recibe proyecciones colinérgicas (y monoaminérgicas) de los núcleos pedúnculo-pontinos y tegmental laterodorsales del tallo cerebral, y se ha observado que la activación colinérgica actúa inhibiendo el disparo neuronal del NRT (Hirata, Aguilar y Castro-Alamancos, 2006).

Las proyecciones monoaminérgicas del tallo cerebral hacia el NRT son serotoninérgicas (Aznar, Qian, Shah, Rahbek y Knudsen, 2003) y noradrenérgicas. Ambas despolarizan las neuronas del NRT, posiblemente a través de la disminución de la conductancia de potasio en reposo (McCormick y Wang, 1991).

Asimismo, como ya se ha establecido, las células del NRT son ricas en receptores dopaminérgicos (Ferrarelli y Tononi, 2010) y son inervadas por axones dopaminérgicos que se originan en la sustancia *nigra pars compacta* (Anaya-Martínez, Martínez-Marcos, Martínez-Fong, Aceves y Erlij, 2006). La activación de estos receptores dopaminérgicos provoca la inhibición de la liberación de GABA (Florán, Florán, Erlij y Aceves, 2004), así también modula la entrada GABAérgica de las aferencias del globo pálido (Gasca-Martínez et al., 2010).

### **2.3 NRT y atención selectiva**

La interacción entre los sistemas de neurotransmisión que se expresan en el NRT puede estar involucrada en el papel modulador que juega este núcleo en la regulación de la entrada de estímulos, función por la cual ha sido involucrado como parte de los procesos atencionales.

Se ha propuesto que el NRT es un núcleo clave para el circuito de la atención (Crick, 1984), ya que por su posición estratégica puede filtrar señales en una etapa temprana del procesamiento y regular la entrada de la comunicación TC (Zikopoulos y Barbas, 2012).

Este núcleo ha sido implicado en los procesos atencionales por sus propiedades inhibitorias de la actividad TC durante el sueño (Zikopoulos y Barbas, 2006) así como por su participación en la pérdida de la consciencia mediante la inhibición de las neuronas TC durante las crisis generalizadas de ausencia generadas en la corteza (Fuentealba y Steriade, 2005).

Esta noción es consistente con déficits en la atención a estímulos visuales, acústicos y somáticos observados después de lesiones en el NRT provocadas por ácido domoico en ratas (Friedberg y Ross, 1993), donde además se observó una reducción en la actividad motora.

Así también, se ha demostrado un vínculo entre el NRT y los efectos en la atención a señales visuales al lesionar el sector visual de este núcleo, observando un déficit en la selección de objetivos relevantes en una prueba de orientación atencional (Weese, Phillips y Brown, 1999).

Por otro lado, al estudiar la respuesta del NRT ante estímulos visuales y la modulación de esta respuesta al cambiar la atención a estímulos auditivos se observó que la respuesta de las neuronas del sector visual del NRT es de latencia corta y breve duración, lo que la hace particularmente apropiada para influir sobre etapas tempranas del procesamiento en la vía visual (McAlonan, Cavanaugh y Wurtz, 2006).

Otros estudios mostraron un incremento selectivo de neuronas marcadas positivamente para la proteína c-Fos [un marcador de actividad neuronal (Montero, 1997)] en el sector del NRT asociado con la modalidad del estímulo atendido (McAlonan, Brown y Bowman, 2000).



De forma similar existe evidencia de un incremento de la actividad en el NRT durante tareas de atención en monos (McAlonan et al., 2006).

La implicación del NRT en los procesos atencionales permite pensar que a través de este núcleo estructuras como la Am o la corteza controlan el paso de señales al tálamo para cambiar la atención a estímulos relevantes (Barbas y Zikopoulos, 2007).

Las conexiones que se han encontrado de la Am al NRT podrían ayudar a dirigir la atención a estímulos biológicamente relevantes y facilitar su acceso a la corteza (Zikopoulos y Barbas, 2012) participando así en la regulación de procesos relacionados con la ansiedad y el miedo.

## **2.4 NRT y ansiedad**

El hallazgo de la existencia de conexiones de la Am hacia el NRT (Zikopoulos y Barbas, 2012) y su implicación en una vía para el control de la atención hacia estímulos biológicamente relevantes está de acuerdo con algunos estudios de lesión del NRT en modelos animales donde observan efectos ansiolíticos.

Uno de estos estudios, utilizó un modelo animal de Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC), en el cual se expone a los animales a un Laberinto en forma de «T», el cual puede emplearse para estudiar la conducta de alternación espontánea, que es la tendencia natural para explorar lugares nuevos y donde los animales con el modelo de TOC manifiestan una elección perseverante al mismo brazo del laberinto y observaron una disminución de conducta perseverante después de una lesión bilateral del NRT con nitrato de plata; por lo que sugirieron un posible efecto ansiolítico ya que el mismo resultado se observó con la administración de clomipramina utilizado para el tratamiento del TOC (Andrade et al., 2009).

Otro grupo de investigadores (Anaya-Martínez et al., 2006), para estudiar la conducta de volteo paradójico en ratas, lesionaron unilateralmente la innervación dopaminérgica del NRT y observaron, además de una disminución de la actividad locomotora, durante el entrenamiento de las ratas en el rotarod, prueba que se utilizó para la medición de la locomoción, una reducción en la conducta relacionada con miedo (menor defecación y lloriqueo, así como menor conducta de evitación al manejo del investigador) en las ratas lesionadas comparadas con las operadas de forma sham (sólo inyección de solución salina).

En un trabajo posterior, examinaron los posibles efectos ansiolíticos de la lesión de la innervación dopaminérgica del NRT con la toxina 6-OHDA, identificando un incremento en el tiempo que pasaron las ratas en los brazos abiertos del LEC y una disminución en la duración de la conducta de enterramiento en la prueba de ED, siendo ambos índices que sugieren una disminución de la conducta tipo ansiosa, posiblemente mediados por el papel de la DA en el NRT en la conducta tipo ansiosa (Picazo et al., 2009).

## **JUSTIFICACIÓN**

Los trastornos de ansiedad constituyen un grupo de padecimientos que tienen en conjunto una prevalencia de hasta 31.2% (National Comorbidity Survey, 2013) y un 14.3% de prevalencia en nuestro país (Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica, 2003). A pesar de ello, aún no han recibido la misma importancia que se le da otros trastornos como los psicóticos o del ánimo, además, el tratamiento no siempre es el adecuado.

Actualmente existen diversos fármacos para el tratamiento de los trastornos ansiedad; sin embargo, desde un 30% hasta 50% de los pacientes aún son refractarios al tratamiento; incluso existen estudios que mencionan que una recuperación total de los síntomas es poco común (Pollack et al., 2008).

Por ello es importante el desarrollo y uso de modelos animales para implementar nuevas alternativas terapéuticas, así como aportar al conocimiento acerca del substrato biológico de esta patología.

El impacto de este trabajo radica en la aportación de datos experimentales acerca de los efectos de la lesión del NRT, el cual podría ser una estructura alternativa a la cual podrían estar dirigidas nuevas vías farmacológicas o terapéuticas, como la neuromodulación, a través de su estimulación para el tratamiento de los trastornos de ansiedad.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Algunos estudios han observado, después de una lesión del NRT, efectos ansiolíticos en modelos animales. En uno de estos estudios, con un modelo animal de TOC, observaron una disminución en conductas perseverantes después de una lesión bilateral del NRT con nitrato de plata; sugiriendo un posible efecto ansiolítico ya que el mismo resultado se observó con la administración de clomipramina utilizado para el tratamiento del TOC (Andrade et al., 2009). En otro modelo experimental también se observaron efectos ansiolíticos, (Picazo et al., 2009) después de lesionar la innervación dopaminérgica de este núcleo con la toxina 6-OHDA.

Estas investigaciones previas han realizado la lesión de este núcleo en la rata adulta, por lo que se desconoce el efecto que tiene la lesión del NRT, en una etapa crítica del desarrollo durante la cual se llevan a cabo procesos como la migración y proliferación neuronal (Rice y Barone, 2000) sobre la conducta tipo ansiosa.

## **OBJETIVO**

El propósito general de este trabajo fue identificar las modificaciones conductuales y electroencefalográficas, asociadas a la lesión neonatal en el NRT de la rata.

Objetivos específicos:

- 1) Caracterizar los efectos ansiolíticos relacionados con la lesión del NRT.
- 2) Caracterizar los cambios electroencefalográficos relacionados con la lesión del NRT.

## **HIPÓTESIS**

La lesión del NRT en el día postnatal siete generará cambios en la conducta tipo ansiosa, así como modificaciones electroencefalográficas en la rata adulta.

Hipótesis específicas

- 1) Las ratas con lesión en el NRT presentarán menos conductas tipo ansiosas, expresadas en un mayor tiempo en los brazos abiertos del LEC, un menor tiempo enterrando en ED, un mayor tiempo en el centro del CA y un mayor consumo de solución aversiva en AS, que aquellas a las que se les realizará una simulación de lesión.
- 2) Existirán alteraciones electroencefalográficas, en forma de descarga espiga-onda, en las ratas que presenten lesión en el NRT.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### ***Institución***

Esta tesis fue realizada en el Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación de la Dirección de Investigaciones en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM), el cual cuenta con bioterio, fármacos, equipo y computadoras de análisis necesarios para este trabajo.

### ***Sujetos***

Para el desarrollo de esta investigación, se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, (N=20) con un peso entre 300-400 g. obtenidas del bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), las cuales se mantuvieron en un ciclo luz/oscuridad 12:12. Las ratas se alojaron en cajas de acrílico en grupos de 5 ratas o individualmente después de ser operadas, en ellas tuvieron acceso sin restricción a comida y agua. Todos los procedimientos descritos en el presente estudio están de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio emitida por la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (NOM-062ZOO-1999) y aprobados por el Comité para el Cuidado de los Animales del Bioterio de la BUAP.

## ***Lista de Materiales***

Algodón y gasas estériles

Sutura estéril Seda Negra Trenzada 6-0 Atramat®

Material de cirugía (pinzas, aguja, tijeras)

Mesa de cirugías

Equipo de cirugía esterotóxica David Kopf Instruments

Cánula calibre-30 de acero inoxidable

Jeringa de microinyección Hamilton de 10  $\mu$ l

18 canicas de 3.8 m<sup>3</sup>

10 bebederos de 250 ml Living World®

Estaño para soldar Omega®

Cautín Steren®

Electrodos epidurales (tornillos de acero inoxidable soldados a pequeñas terminales de cobre), conectores, cables de registro (terminales adaptadas a conexión directa con amplificadores Grass)

Amplificadores modelo 78D Grass

Computadora tipo PC-HP®

Software de adquisición de señal Adq8ch

Software para análisis estadístico SPSS versión 15



Cámara de video (Sony *Cybershot W320*) adaptada a una tarjeta digital de PC para almacenar los videos en una computadora PC.

Ácido okadaico (Sigma-Aldrich®, St Lois, MO, EUA).

Salsa Tabasco® (McHENNY Co., Avery Island, EUA)

Pentobarbital sódico (Pisabetal® 6.3g/100ml, México)

Xilocaina® (AstraZeneca S.A de C.V solución inyectable al 2% /50ml)

Antiséptico (Microdacyn®, Oculus Technologies de México).

Resina Acrílica (Nic Tone Cross Linked®, mdc dental México)

Leche azucarada (La Lechera, 397 g, Nestlé®)

Alcohol Etílico (Etanol, Hycel®, México)

Ketamina (Anesket®, solución inyectable 100 mg/10ml)

Xilacina (al 99%, Sigma-Aldrich®, St Lois, MO EUA)

## ***Variables***

### ***Variables dependientes***

*Tiempo en movimiento*: Es la cantidad de segundos que el animal se encontró cruzando sus cuatro patas de un cuadrante a otro en la arena del CA.

*Número de cruces*: Es la cantidad de cruces de las cuatro patas de un cuadrante a otro en la arena del CA.

*Tiempo en el centro:* Es la cantidad de segundos que el animal permaneció en el cuadrante central de la arena del CA.

*Tiempo en brazos abiertos (BA), brazos cerrados (BC) y plataforma central (PC):* Es el porcentaje de tiempo que el animal pasó en cada uno de estos espacios del LEC del tiempo total de prueba.

*Número de cruces a BA, BC y PC:* Es el número de veces que el animal cruzó con sus cuatro patas a cada uno de estos espacios del LEC.

*Tiempo enterrando:* Es el número de segundos que el animal expresó la conducta de enterramiento durante la prueba de ED.

*Número de canicas enterradas:* Es el número de canicas que al final de la prueba se encontraron enterradas a 2/3 de su volumen con aserrín.

*Consumo de solución aversiva:* Es el consumo en gramos de solución aversiva (quinina disuelta en agua azucarada) que ha tomado la rata a lo largo de una exposición de dos horas.

*Aciertos en la prueba de laberinto en T:* Es el porcentaje de intentos correctos que el animal cruzó al brazo del laberinto que contenía una recompensa.

*Descarga espiga-onda:* Es una descarga epileptiforme, que se caracterizó por una espiga (despolarización) de gran amplitud y una onda (hiperpolarización) de baja amplitud. Se tomó en cuenta la aparición de una descarga espiga-onda con duración igual o mayor a un segundo; que su amplitud fuera el doble que la actividad basal del EEG.

### ***Variable independiente***

*Lesión del núcleo reticular del tálamo:* es un daño o destrucción de esta porción del tejido cerebral, con 0.3  $\mu$ l de ácido okadaico al día postnatal siete.

### ***Cirugías***

#### ***Cirugía de ablativa del NRT***

En el día postnatal 7, se dividió a los animales en dos grupos: uno en el cual a los animales se les realizó una cirugía ablativa del NRT (n=9) y otro donde los animales se les realizó una cirugía *sham* (n=11). Para la cirugía, se utilizó el siguiente protocolo: se anestesió a las ratas por hipotermia, colocándolas sobre una bolsa de látex que contenía hielo, por un período de 18 minutos, con lo que se obtuvo aproximadamente 20 minutos de anestesia.

Una vez anestesiada, se colocó sobre una plataforma para cirugía estereotáxica en rata neonata, acoplada a un estereotáxico estándar y se inyectó 0.3  $\mu$ l de ácido okadaico o un volumen igual de vehículo (solución salina al 0.9%), para el grupo *sham*, durante un tiempo de 2 minutos (150  $\mu$ l/min), a través de una cánula con calibre 30 gauge.

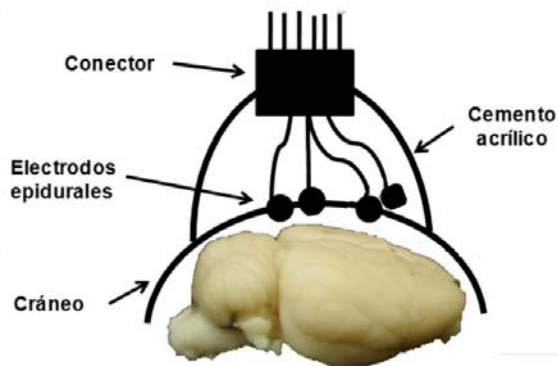
Las coordenadas, basadas en el atlas de Paxinos, fueron AP -1.4mm a bregma,  $\pm 2.0$ mm de la línea media y -6.2mm de la duramadre. Después de este procedimiento, todas las ratas se colocaron sobre un soporte tibio hasta su completa recuperación y entonces regresaron con su madre. Al día 21 de edad, se destetó a los animales y se colocaron en número de tres animales por caja hasta el día de la medición conductual.

### ***Cirugía estereotáxica***

Una vez terminado el registro conductual, los animales fueron sometidos a una cirugía estereotáxica para la colocación de electrodos epidurales. Las ratas fueron anestesiadas con una mezcla de Ketamina y Xilacina (100mg/Kg y 50mg/Kg respectivamente). El procedimiento fue el siguiente: una vez anestesiado el animal se colocó en un sistema estereotáxico, se esterilizó la zona con isodine y se realizó un corte en la piel.

Se colocaron electrodos de registro en el cráneo (cinco tornillos de acero inoxidable soldados a pequeñas terminales de cobre, dos a 1.0 mm anterior a bregma, dos a 2.0 posterior a bregma y uno de referencia sin actividad posterior a lambda) de acuerdo con el atlas de Paxinos y Watson (1998).

Los electrodos se unieron a un conector y fueron fijados al cráneo con cemento acrílico (Figura 3). Todos los animales tuvieron siete días para recuperarse de la cirugía.



**Figura 3. Diagrama de colocación de electrodos en la rata.** Esquema del plano sagital que muestra el circuito de conexión entre los electrodos el conector, en el cerebro de la rata (Tomado y modificado de Hernández-González, 2013).

### ***Registro EEG***

El registro EEG se llevó a cabo en un cuarto aislado, la señal fue adquirida con amplificadores (78D Amplifier, GRASS) y con un convertidor analógico-digital (Adq8ch). Los registros de la actividad eléctrica cerebral de los animales de ambos grupos tuvieron una duración de 15 minutos, a una frecuencia de 0-300Hz. Los complejos espiga-onda que se presentaron se analizaron subsecuente a la información transferida al programa Adq8ch, para poder analizar el efecto de la lesión del NRT.

## ***Registro conductual***

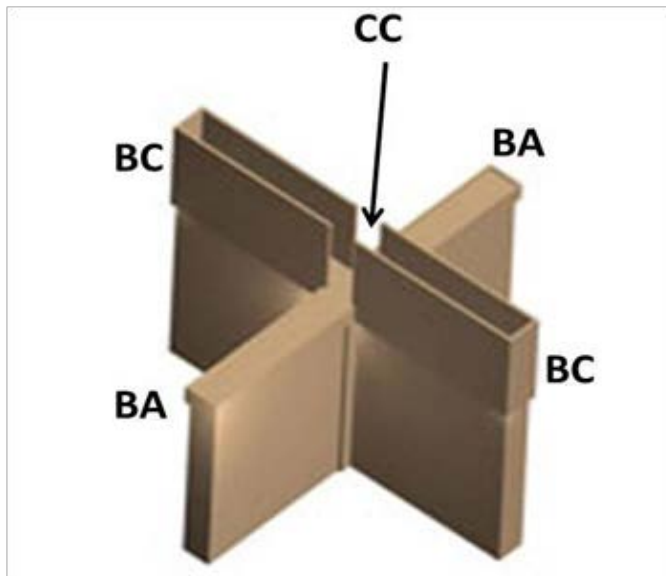
### ***Prueba de CA***

La primera medición conductual que se llevó a cabo de las ratas fue el campo abierto (CA) para descartar alteraciones motoras.

Para esta prueba se colocó a las ratas en una caja de madera de 60 x 60 x 50 cm de altura de pared. El fondo de la caja se dividió en 9 cuadrantes, de los cuales 8 fueron considerados periféricos y uno central. Se colocó a la rata en el cuadrante central y se le dejó ambular libremente en la caja por 30 minutos. Toda la prueba se videograbó para su posterior análisis, en donde se midió el tiempo en movimiento y el número de cruces entre cuadrantes, así como los indicadores de ansiedad que son: tiempo en el centro, número de *rearings* o levantamientos del tren anterior y de acicalamientos.

### ***Prueba del LEC***

El LEC es un paradigma ampliamente utilizado como un indicador de la presencia de ansiedad en los animales. Consta de 4 brazos de una distancia de 50cm del suelo, cada uno de los brazos tiene una medición de 10cm, de ancho dos de los brazos se encuentran cubiertos por paredes de 40cm de alto (Figura 4).



**Figura 4. Laberinto Elevado en Cruz (LEC).** (BA) Representan los brazos abiertos, cuyas dimensiones son de 50 x 10 cm cada uno, (BC) son los brazos cerrados que tiene paredes elevadas de 40 cm, con las mismas dimensiones que BA, (CC) cuadro central de 10 x 10 cm que une los cuatro brazos. El LEC se encuentra a 50 cm del piso.

Durante la realización de la prueba se iluminó con luz roja (40 W), se colocó a la rata en el centro del LEC con la cabeza hacia uno de los BA durante un periodo de 5 min. Se evaluó: 1) el número de entradas a BA y BC; así como, 2) el porcentaje de tiempo en cada uno de los brazos. El criterio para considerar una entrada es que la rata haya cruzado con las cuatro patas hacia el interior de los mismos.

En este paradigma, un incremento en el tiempo invertido y el número de entradas a los BC es interpretado como una respuesta ansiogéna, mientras que el número total de entradas a ambos brazos, proporciona una medida de la actividad general (Fernández-Guasti y Picazo, 1999; Pellow, Chopin, File y Briley, 1985). La medición de esta conducta se realizó dos días después de la prueba de CA.

### ***Prueba de ED***

En esta prueba se colocó a las ratas en una caja de acrílico de 47 x 27 x 15cm, llena con aproximadamente 5cm de aserrín, ligeramente comprimido para hacer una superficie plana y uniforme. La cama de aserrín puede ser reutilizada si se comprime y se aplana de nuevo entre animales, ya que esto parece no afectar el desempeño de enterramiento de los animales siguientes.

Se colocaron 18 canicas cubiertas con una capa de Salsa Tabasco en un patrón uniforme, con 4cm de distancia entre cada una. se colocó al animal en el centro de la caja durante 60 minutos. Se videograbó toda la prueba para su posterior análisis, donde se cuantificó: 1) el número de canicas enterradas (a por lo menos 2/3 de su volumen) con aserrín y 2) el tiempo enterrando.

### ***Prueba de AS***

Dos días después de terminada la prueba de ED, se comenzó el protocolo de la prueba de aversión simple, que consistió en registrar por 2 horas por día, durante cuatro días consecutivos, el consumo de una disolución novedosa altamente apetitiva, en esta caso Lechera (Nestlé) diluida 1:4 con agua.



En un intento por minimizar la exposición a estímulos novedosos no deseados o al manejo, la prueba se realizó en sus cajas, en el bioterio a la misma hora, todos los días.

Los bebederos estándar fueron reemplazados con bebederos que contenían la solución de leche (pesada antes y después de cada día de prueba) y mantuvieron acceso a comida y agua *ad libitum*. Como una medida de aversión al sabor, se añadió quinina a la solución de leche en el quinto día, en una concentración de 0.01%, lo que algunos estudios han mostrado que es moderadamente aversiva, causando una reducción en el consumo de la solución de aproximadamente a la mitad.

### ***Prueba de Laberinto en T***

Al terminar los cinco días de la prueba de aversión al sabor, se sometió a los animales a la prueba de Laberinto en T que consistió en un brazo principal y dos brazos laterales con medidas de 50 x 16 x 30 cm y se realizó de 3 etapas, a lo largo de cinco días: el día uno es la primer etapa, habituación, donde se dejó a los animales libremente por el laberinto durante cinco minutos, el cual contenía recompensa en ambos brazos laterales.

Al final de esta etapa, se hizo una medición del número de veces que visitó cada brazo y el brazo de preferencia de cada animal se determinó según el brazo que haya sido más veces visitado. El día dos, tres y cuatro de la prueba conformaron la etapa de entrenamiento, donde se dejó recompensa en el brazo contrario al determinado como *preferido*. Durante esta etapa se colocó a la rata en el brazo principal y se le dieron cuatro intentos para llegar a la recompensa.

Al colocar las cuatro patas dentro del brazo equivocado, se determinó como error y se retiró del laberinto; sin embargo, si llegó al brazo con la recompensa, se le dejó que la consumiera, para después retirar del laberinto. Se dieron entre 20 y 30 segundos entre prueba. El laberinto se limpió con papel entre intento y con alcohol al 40%, entre animales.

El día cinco fue la etapa de la prueba final, donde se colocó a la rata en el brazo principal y se dejó que fuera al brazo con la recompensa. La prueba se dio por terminada cuando la rata logró 4 de 5 intentos consecutivos correctos.

La recompensa consistió en una placa que contenía 0.6 ml de una preparación 1:1 de leche azucarada (La Lechera, Nestlé) con agua. Se pesó a los animales, cada uno de los cinco días de la prueba y, para mantener la motivación por la búsqueda de recompensa, se les privó de comida lo suficiente como para mantenerlos al 85% de su peso al comenzar la prueba.

Todas las conductas fueron videograbadas y almacenadas en PC para análisis subsecuente.

### ***Diseño experimental***

El diseño experimental fue unifactorial (lesión) intergrupos, con dos grupos: 1) **Sham**, el cual recibió la simulación de la lesión ablativa del NRT y 2) **Experimental**, al cual se le llevará a cabo la lesión ablativa del NRT.

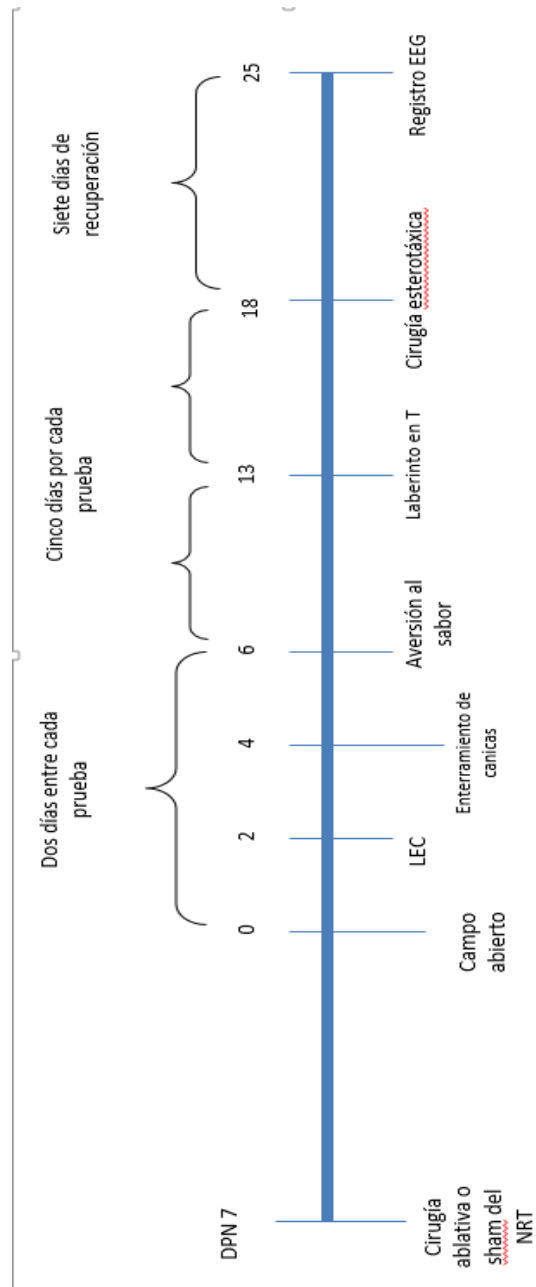
## **Experimentos**

Para observar la evolución temporal de los experimentos ver Figura 5. Para el grupo **sham**, se realizó una simulación de la cirugía ablativa del NRT, donde se les anestesió y, en lugar de ácido okadaico, se les inyectó solución salina.

Posteriormente, se les sometió a las pruebas conductuales de CA para la comprobación de existencia o no de alteraciones motoras, LEC, enterramiento de canicas y AS para la medición de la conducta tipo-ansiosa, y laberinto en T para la evaluación de la memoria espacial. Todas las pruebas conductuales llevaron dos días de espacio entre cada una.

Al finalizar la etapa de medición conductual se les realizó una cirugía estereotáxica y colocación de electrodos corticales. Una semana después, se cuantificó la actividad EEG. Este grupo se realiza para comparar el efecto de la lesión sobre la conducta y la actividad EEG de los animales lesionados, con aquellos que no lo fueron.

Al grupo **experimental** se le realizó la cirugía ablativa del NRT, a través de la inyección del ácido okadaico, por medio de una cánula. Nueve meses después se llevó a cabo la medición de la conducta, a través de las pruebas ya mencionadas, en el mismo orden que el grupo *sham* y posteriormente, el registro EEG. Esto para conocer el efecto que la lesión tiene sobre la conducta tipo-ansiosa y la actividad EEG.



**Figura 5.** Línea del tiempo del protocolo experimental. DPN, día postnatal; NRT, núcleo reticular del tálamo; LEC, laberinto elevado en cruz; EEG, electroencefalográfico

### ***Análisis estadístico***

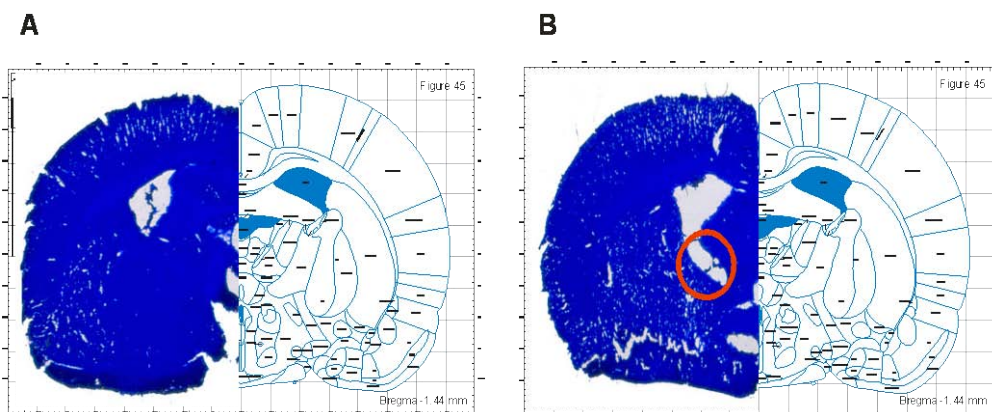
Para analizar la conducta, se realizó una prueba T de *Student* para la comparación de las mediciones de las variables dependientes con la variable independiente. Se tomaron los resultados como significativos con valor de  $p < 0.05$ . Se utilizó este análisis debido a que es un estudio con muestras independientes, donde las variables dependientes se midieron una sola vez, donde hay dos grupos y donde el nivel de medición de las variables dependientes es escalar.

## **RESULTADOS**

El planteamiento inicial de este trabajo fue identificar si la lesión neonatal del NRT induce modificaciones conductuales y de EEG en la rata adulta. Para ello se realizaron cinco pruebas conductuales: campo abierto, laberinto elevado en cruz, enterramiento defensivo, aversión al sabor y laberinto en T; así como un registro EEG. Las pruebas conductuales mostraron que hay modificaciones significativas en la conducta motora de los animales con lesión NRT; pero no se identificaron efectos ansiolíticos en el resto de las pruebas conductuales. Así también se registraron modificaciones en el EEG en forma de espiga-onda en los animales del grupo Lesión.

## ***Histología***

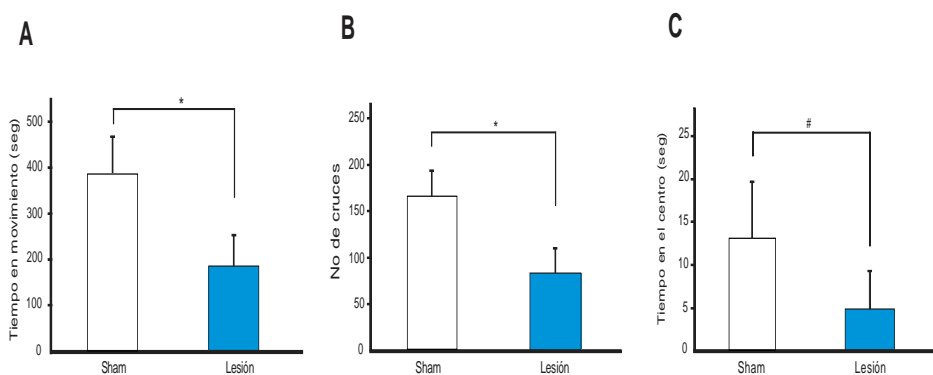
Los animales del grupo Lesión recibieron 0.3  $\mu$ l de ácido okadaico para la cirugía ablativa del NRT, mientras que las ratas del grupo Sham sólo recibieron solución salina. En la Figura 6 se muestran dos cortes coronales representativos con tinción de Nissl de 60  $\mu$ m a 1.44 mm posterior a bregma de una rata del grupo sham (Figura 6A) y una rata del grupo Lesión, además en el círculo rojo se puede identificar la lesión, la cual abarcó aproximadamente 1.5 mm anterior-posterior y 1mm dorso-ventral (Figura 6B).



**Figura 6. Lesión del NRT.** Cortes coronales representativos con tinción de Nissl donde se aprecia el NRT de (A) una rata sham y (B) una rata del grupo Lesión del NRT y en un círculo rojo se observa dicha lesión. Referencias cartesianas tomadas del atlas de rata de Paxinos y Watson, 2005.

## Modificaciones en la conducta motora

En la Figura 7, identificamos las diferencias en movimiento entre los grupos Lesión y Sham observadas durante la prueba de CA, diferencias expresadas tanto en tiempo en movimiento como en número de cruces entre cuadrantes, así como en tiempo en el cuadrante central.



**Figura 7. Análisis cuantitativo de la prueba de Campo Abierto (CA).** A) Tiempo en movimiento y B) Número de cruces de los cuadrantes del CA. C) Tiempo en el cuadrante central del CA. Nótese las diferencias significativas entre los grupos. \* $p < 0.001$ ; # $p < 0.026$  intragrupos. Los datos están expresados en promedio  $\pm$  DE. *t de Student*

El grupo Lesión (N=9) mostró un promedio de  $183\pm 69.9$  segundos en movimiento, mientras que en el grupo sham (N=11), el tiempo promedio de movimiento fue de  $387.4\pm 79.9$  segundos en el transcurso de la prueba (Figura 7A). El número de cruces de cuadrantes de los animales lesionados fue de  $82\pm 29.2$  y los animales del grupo Sham cruzaron un promedio de veces  $164.5\pm 30.3$  (Figura 7B). Por otro lado, se puede apreciar que el grupo Lesión se mantuvo en el cuadrante central un promedio de  $4.8\pm 4.49$  segundos y por su parte el grupo Sham se encontró en este cuadrante  $13.1\pm 6.6$  segundos en promedio (Figura 7C).

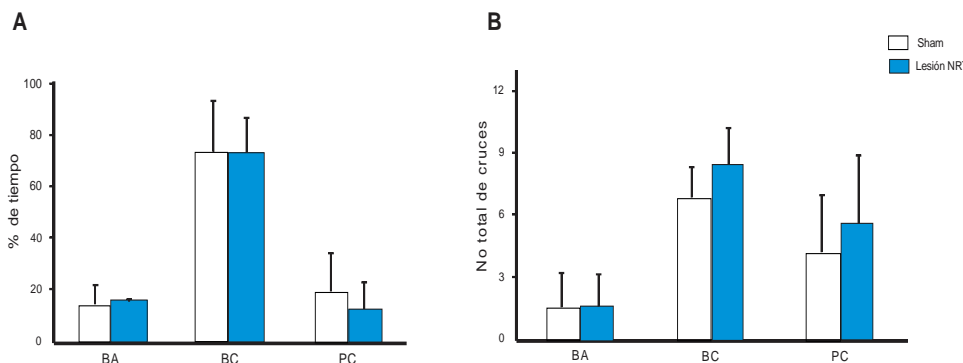
### ***Análisis de la conducta en el LEC***

El objetivo en esta parte del trabajo fue determinar si, como lo propusimos, la lesión en el NRT disminuye la ansiedad o provoca algún efecto ansiolítico en el perfil conductual del animal.

Los resultados indicaron que los animales del grupo Lesión y del grupo Sham tuvieron un número similar de entradas a los BC ( $8.4\pm 1.8$  y  $6.75\pm 1.6$  respectivamente, Figura 8B) como de entradas a los BA ( $1.6\pm 1.5$  y  $1.5\pm 1.6$ ) y a la PC ( $5.6\pm 3.3$  y  $4.13\pm 2.8$ ).

En cuanto al porcentaje de tiempo de permanencia en cada uno de los brazos, para los BC se encontró un  $72.6\pm 14.1\%$  del grupo Lesión y un  $72.92\pm 20.4\%$  del grupo Sham, los cuales son mayores que en los BA de  $13.67\pm 7.9\%$  y  $15.22\pm 0.8\%$  y en la PC de  $18.54\pm 15.6\%$  y  $11.42\pm 11.2\%$  de ambos grupos, respectivamente (Figura 8A); es decir, ambos grupos tuvieron una tendencia a presentar un perfil de ansiedad, sin embargo no se encontraron diferencias significativas.



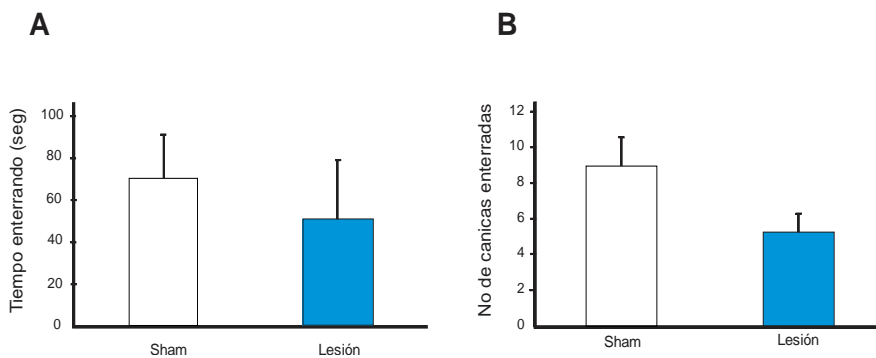


**Figura 8. Análisis de la prueba conductual de LEC.** La ansiedad se mide si el animal permanece mayor tiempo en los brazos cerrados (BC) asociado a una disminución de permanencia en los brazos abiertos (BA). En **A** se graficó el porcentaje de tiempo de permanencia y en **B** el número de entradas a cada brazo. El grupo **Sham** (N=11; barras blancas) y **Lesión** (N=9; barras azul claro) no muestran diferencias en su perfil conductual. Promedio del porcentaje de tiempo y del número de entradas a cada brazo  $\pm$  D.E. *t de Student*.

### **Análisis de la conducta en el ED**

Otra prueba utilizada para medir la expresión de la conducta tipo-ansiosa es el Enterramiento Defensivo (ED), en donde un mayor tiempo de conducta de enterramiento indica un mayor nivel ansiógeno. Cuantificamos el tiempo que los animales expresaron la conducta de enterramiento, así como el número de canicas enterradas y lo comparamos entre grupos. El grupo Sham expresó esta conducta un promedio de  $70.13 \pm 21.1$  segundos y el grupo Lesión  $51 \pm 27.8$  segundos en promedio (Figura 9A).

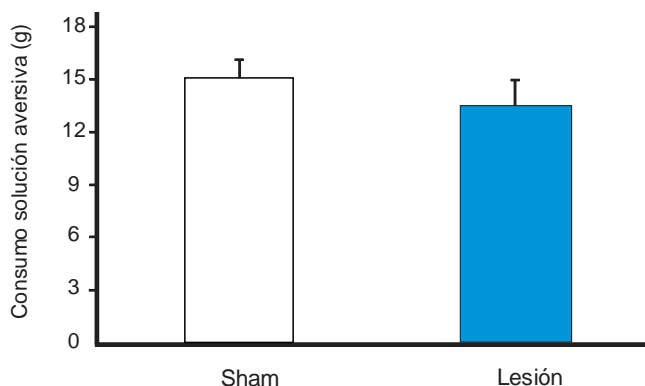
Los animales de este último grupo enterraron  $5 \pm 3$  canicas en promedio mientras que los del grupo con simulación de lesión enterraron en promedio  $9 \pm 5$  canicas (Figura 9B). No se identificaron diferencias significativas en la comparación de grupos.



**Figura 9. Análisis de la prueba conductual de enterramiento defensivo (ED).** En **A** se graficó el tiempo que los animales de cada grupo expresaron la conducta de enterramiento y en **B** el número de canicas enterradas. No se encuentran diferencias significativas; sin embargo, nótese una ligera tendencia a un menor tiempo enterrando, así como a enterrar un menor número de canicas del grupo Lesión. Los resultados muestran promedios  $\pm$  D.E. *t de Student*.

### **Efecto de la lesión del NRT sobre la aversión al sabor**

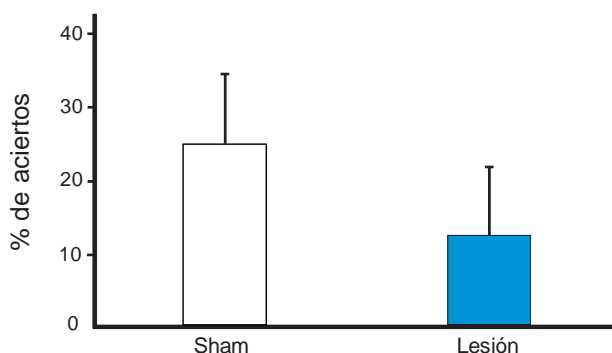
Los siguientes resultados se obtuvieron en la búsqueda de identificar el efecto de la lesión del NRT en la aversión al sabor, esperando un aumento del consumo de solución aversiva como efecto ansiolítico. No hay diferencias significativas entre los grupos en el consumo de una solución altamente palatable (leche azucarada) cuando se le agrega una sustancia aversiva (quinina). El grupo sham consumió la cantidad promedio de  $15.02 \pm 1.13$  gramos de solución, mientras que los animales del grupo con lesión en el NRT consumieron  $13.56 \pm 1.44$  g de solución en promedio (Figura 10).



**Figura 10. La lesión del NRT no tiene efecto sobre la conducta aversiva al sabor.** Se muestra el consumo, de ambos grupos (Sham N=11 y Lesión N=9), de una solución altamente palatable cuando se le agrega una sustancia aversiva. No se identificaron diferencias significativas entre los grupos. Promedio del porcentaje de tiempo y del número de entradas a cada brazo  $\pm$  D.E. *t* de Student.

### **Análisis de la memoria espacial en el laberinto en T**

La lesión en el NRT no modifica la memoria espacial de la rata (Figura 11). El análisis de la memoria espacial, cuantificada a través del porcentaje de aciertos correctos, es decir intentos en los que el animal cruzó el brazo del laberinto que contenía una recompensa, en la sesión de prueba (última sesión de esta prueba conductual) indicaron que no hay modificación en la memoria espacial de los animales con lesión en el NRT, comparado con el grupo Sham. El grupo Lesión presentó un promedio de  $12.5 \pm 9.4\%$  de aciertos, en tanto que el grupo Sham exhibió  $25 \pm 9.5\%$  de aciertos, en promedio. A pesar de que se observa una ligera tendencia del grupo Sham en mostrar mayor porcentaje de aciertos, la diferencia entre los grupos no fue significativa.

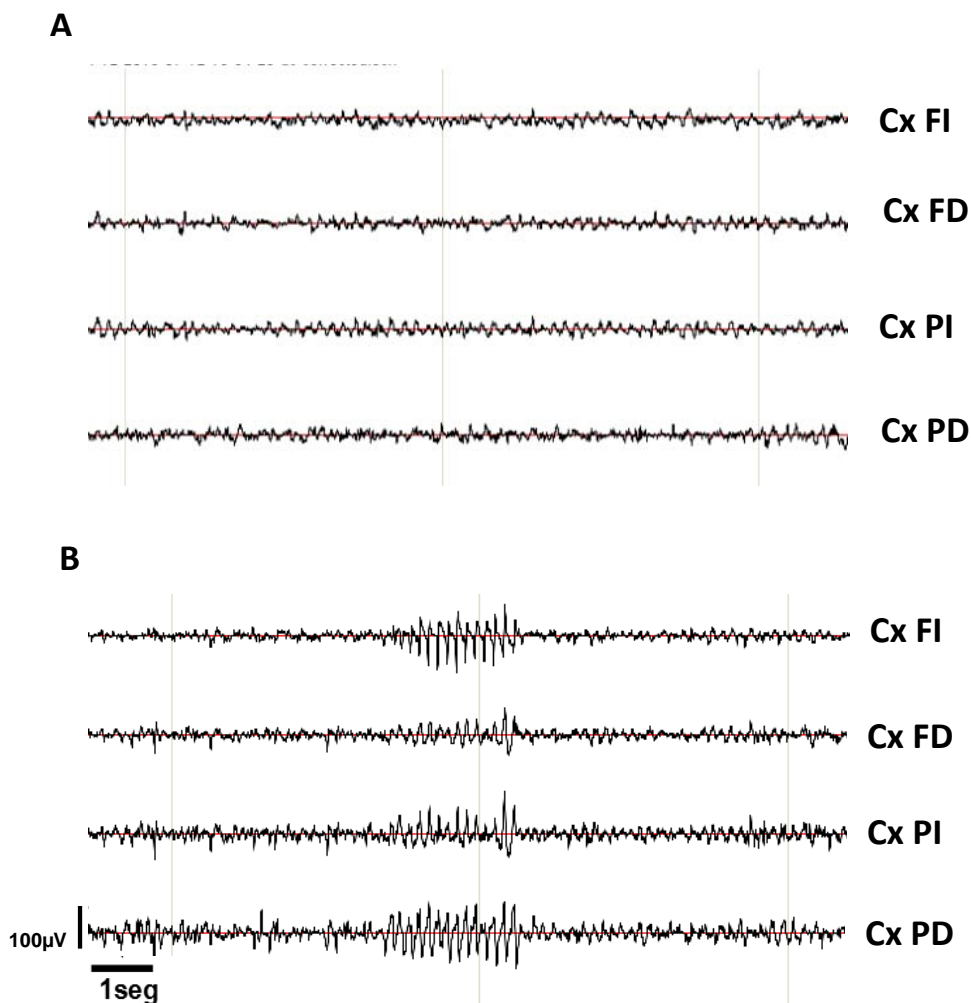


**Figura 11. La lesión en el NRT no modifica la memoria espacial.** Se muestra el porcentaje de aciertos del grupo **Sham** (N=11) y el grupo **Lesión** (N=9). Nótese la tendencia del grupo Sham en expresar mayor porcentaje de aciertos, sin embargo, la comparación entre grupos no fue significativa. Los datos se expresan en promedios  $\pm$  D.E. *t de Student*

### ***Modificación de la actividad EEG***

Los animales con lesión en el NRT presentaron en su registro EEG un paroxismo de tipo descarga espiga-onda. Este tipo de actividad electroencefalográfica sólo fue encontrado en el registro EEG de los animales con lesión en el NRT y se propagó a todos las cortezas registradas (frontal y parietal izquierda y derecha). Asimismo, presentó con un promedio de 200 $\mu$ V de amplitud, 7 Hz de frecuencia, 2-4 segundos de duración y 5 espigas por segundo.

Este paroxismo se correlacionó con una conducta similar a una crisis de ausencia, al presentar inmovilidad, falta de respuesta a estímulos y ligeros movimientos faciales. En la Figura 12 se muestra un trazo de registro EEG representativo de una rata sham (Figura 12A) y de una descarga espiga-onda de un animal con lesión en el NRT (Figura 12B).



**Figura 12. Modificación de la actividad EEG en las ratas con lesión.** Se muestra un trazo representativo de un registro de actividad EEG de la corteza frontal izquierda (Cx FI) y derecha (Cx FD) y de la corteza parietal izquierda (Cx PI) y derecha (Cx PD) de A) una rata sham y B) una rata con lesión del NRT donde se observa una descarga tipo espigonda de un animal con lesión en el NRT. Estas descargas se correlacionaron con una conducta similar a una crisis de ausencia.

## **DISCUSIÓN**

### ***Generalidades***

La lesión en el NRT en etapas tempranas del desarrollo induce cambios en la actividad motora, manifestados en una disminución en el movimiento, similar a lo encontrado anteriormente (Friedberg y Ross, 1993). Por otro lado, se presentaron modificaciones en la actividad EEG de las ratas con lesión en el NRT en forma de descargas epileptiformes tipo espiga-onda, con una frecuencia promedio de 7 Hz y 2-4 s de duración, los cuales se correlacionaron con conducta de detenimientos súbitos e inmovilidad, lo que podría estar relacionado con la disminución de movimiento.

En contraste con otros estudios (Picazo et al., 2009; Andrade et al., 2009) no se encontraron diferencias significativas en las pruebas conductuales que indiquen que la lesión del NRT induce un efecto ansiolítico. Esta diferencia en los resultados puede ser debido a que estas investigaciones utilizan, en su modelo experimental, ratas adultas y en este trabajo se realizó la lesión del NRT en el día postnatal siete, periodo crítico para la culminación de la proliferación y migración celular (Rice y Barone, 2000).

### ***Diferencias en la conducta motora***

Los animales del grupo Lesión presentaron en la prueba de CA un menor tiempo en movimiento, menos cruces entre cuadrantes y menor tiempo de permanencia en el cuadrante central. Éste último es considerado un indicador de ansiedad (Heredia, Torrente, Colomina y Domingo, 2013), bajo el concepto de que representa un conflicto entre la ansiedad que presentan los roedores ante espacios abiertos e iluminados y su tendencia natural de explorar ambientes novedosos, por lo que se espera que animales menos ansiosos pasen más tiempo en espacios abiertos (Armario y Nadal, 2013).

Un menor tiempo en movimiento y menor número de cruces podría llevarnos a pensar que la lesión del NRT provoca deficiencias motoras, y que tales deficiencias modifican la expresión de algún efecto ansiolítico que se pueda observar. Estas posibles deficiencias motoras podrían afectar también el desempeño de los animales durante la prueba de Laberinto en T y, aunque no se hayan registrado diferencias significativas entre los grupos, se presentó una tendencia del grupo Lesión al obtener menor porcentaje de aciertos en esta prueba.

A pesar de esto, la falta de movimiento de los animales del grupo Lesión podría no ser debido a deficiencias motrices y la menor cantidad de movimientos de los animales lesionados podría ser explicada por la expresión conductual de los paroxismos encontrados en el registro EEG, que se presentaban con un correlato conductual de detenimientos súbitos e inmovilidad, lo que provocaría que estos animales se movieran menos, al presentar estos paroxismos.



Sin embargo, debido a que la lesión que se realiza en este trabajo se lleva a cabo en etapas tempranas del desarrollo, cuando están teniendo lugar procesos de proliferación y migración celular (Rice y Barone, 2000), no podemos descartar que la lesión genere déficits en la coordinación motriz de estos animales (Torres-García et al., 2012) y es necesaria la aplicación de una prueba más sensible a los cambios en la actividad motora.

### ***Modificación de la actividad EEG***

La lesión del NRT en etapas tempranas del desarrollo generó alteraciones en la actividad eléctrica cerebral, observadas en paroxismos tipo descarga espiga-onda, registrados en el EEG de la rata adulta. El NRT está involucrado en la comunicación TC y CT y participa en la generación de actividad sincrónica cerebral y en los husos de sueño (Beenhakker y Huguenard, 2009) y se ha observado que este tipo de actividad oscilatoria puede convertirse en patológica y generar las DEO (Castillo, Mendoza, Saavedra y Giordano, 2010).

Este tipo de actividad patológica ya se ha reportado en modelos experimentales con ratas de la cepa Sprague-Dawley [las cuales no exhiben predisposición para presentar actividad epiléptica (Buzsáki, Smith, Berger, Fisher y Gage, 1990)]. En este modelo experimental una lesión del NRT promueve la manifestación de espigas de alto voltaje tipo DEO (Marini, Ceccarelli y Mancina, 2002), así como la correlación de estas descargas con una conducta de inmovilidad en los animales (Marini et al., 1995).

La presentación de estos paroxismos puede ser debido a la degeneración celular provocada por la lesión del NRT, en este trabajo mediante ácido okadaico, el cual se ha visto que provoca muerte neuronal (Yi, Cai, Covey y Simpkins, 2008) y se ha demostrado que la destrucción de la porción rostral de esta población GABAérgica única promueve la sincronización EEG anormal, probablemente a través de una des-inhibición (Marini et al., 2002).

### ***La lesión del NRT no tiene efecto sobre la conducta de ansiedad***

El LEC es un instrumento de medición conductual, cuya cuantificación del efecto ansiolítico ha sido previamente validada (Pellow et al., 1985) y maneja el conflicto de los roedores entre la ansiedad que les generan los espacios abiertos o elevados y la tendencia natural para explorar un ambiente nuevo (Armario y Nadal, 2013). Por su parte, en la prueba de ED se puede cuantificar la conducta de enterramiento en respuesta a un estímulo aversivo como son las canicas; esta respuesta es un indicador de ansiedad al ser una conducta repetitiva y perseverante no adaptativa (Thomas et al., 2009).

Asimismo la prueba de Aversión al sabor promueve una respuesta de ansiedad que se manifiesta en una disminución del consumo de una solución altamente apetitiva previamente condicionada, cuando se le agrega una sustancia aversiva (Sullivan y Gratton, 2002).

Se identificó que no hubo diferencias significativas en el porcentaje de permanencia en los sectores del LEC, ni en el número de cruces a cada uno de éstos. Tampoco se observan diferencias entre grupos al analizar el tiempo enterrando ni en el número de canicas enterradas en la prueba de ED. Por su parte en la prueba de AS, los animales de ambos grupos consumieron una cantidad similar de solución apetitiva el día que se le agregó la sustancia aversiva.

Aunque previamente se comentó acerca de un posible efecto ansiógeno de la lesión del NRT medida por un menor tiempo en el centro del CA, tal efecto no fue corroborado en las pruebas aplicadas para la medición de conducta tipo ansiosa. Sin embargo, la interpretación de estos resultados puede diferir de una diferencia en la conducta motora, ya que no se observa un contraste en el número de cruces a los distintos sectores del LEC, ni un número significativamente menor de enterramiento en ED, que puedan sugerir que la falta de movimiento sea lo que previene el efecto ansiolítico.

Ya se ha establecido que el NRT es una estructura clave dentro de los procesos atencionales porque modula el paso de información significativa a través del tálamo (Steriade, 2005) y se ha demostrado que hay un incremento en la actividad del NRT durante tareas de atención tanto en monos (McAlonan et al., 2006) como en humanos (Weddell, 2004). De forma consistente, una lesión en este núcleo genera déficits en la atención tanto en roedores (Friedberg y Ross, 1993) como en humanos (Ross y Graham, 1993).

Asimismo, el NRT presenta conexiones con la Am (Zikopoulos y Barbas, 2012), lo que podría indicar una vía para el control de la atención emocional, ya que la Am permite la modulación de la atención hacia estímulos biológicamente relevantes a través de la regulación de sistemas sensoriales (Phelps y LeDoux, 2005), de los cuales una estructura clave es el NRT.

Por otro lado, los trastornos de ansiedad están caracterizados por una variedad de alteraciones en los sistemas de neurotransmisión (Martin et al., 2010), como el GABAérgico y el dopaminérgico. La disminución de la actividad GABAérgica es capaz de poner de manifiesto conductas ansiosas (Picazo, Estrada-Camarena y Hernández-Aragon, 2006); sin embargo, en el presente trabajo la destrucción de uno de los reservorios GABAérgicos más importantes, como lo es el NRT, no pareció afectar la conducta tipo ansiosa, tal vez debido a efectos compensatorios que tuvieron lugar desde el momento de la lesión, producida a etapas tempranas del desarrollo, hasta el registro de la conducta en la adultez.

Por otro lado, se ha vinculado al circuito dopaminérgico con la regulación de la ansiedad (Pezze y Feldon, 2004), ya que se ha reportado que la inervación de DA del sistema nigrostriatal hacia la Am en situaciones estresantes participa en su activación (de la Mora et al., 2010). En consistencia con estas investigaciones, se ha observado que la pérdida de DA en el NRT provoca efectos ansiolíticos, ya que se ha sugerido que el rol de la DA es modular la capacidad de asignar la relevancia apropiada (importancia) al estímulo presentado (Picazo et al., 2009).

## CONCLUSIONES

1. La lesión en el NRT en etapas tempranas del desarrollo no provoca cambios en la conducta tipo ansiosa de la rata.
2. No existen cambios significativos en la memoria espacial de las ratas con lesión en el NRT.
3. La lesión en el NRT induce una disminución en la actividad motora y cambios permanentes en la actividad electroencefalográfica.

## REFERENCIAS

- Anaya-Martínez, V., Martínez-Marcos, A., Martínez-Fong, D., Aceves, J., Erlij, D. (2006). Substantia nigra compacta neurons that innervate the reticular thalamic nucleus in the rat also project to striatum or globus pallidus: implications for abnormal motor behavior. *Neuroscience*, 143(2): 477-486.
- Andrade, P., Fernández-Guasti, A., Carrillo-Ruiz, J., Ulloa, R., Ramírez, Y., Reyes, R., Jiménez, F. (2009). Effects of bilateral lesions in thalamic reticular nucleus and orbitofrontal cortex in a T-maze perseverative model produced by 8-OH-DPAT in rats. *Behavioural Brain Research*, 203(1):108-112.
- Armario, A., Nadal, R. (2013). Individual differences and the characterization of animal models of psychopathology: a strong challenge and a good opportunity. *Frontiers in Pharmacology*, 137(4):1-13.
- Aznar, S., Qian, Z., Shah, R., Rahbek, B., Knudsen, G. (2003). The 5-HT<sub>1A</sub> serotonin receptor is located on calbindin- and parvalbumin-containing neurons in the rat brain. *Brain Research*, 959(1):58-67.
- Barbas, H., Zikopoulos, B. (2007). The prefrontal cortex and flexible behavior. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 13(5):532-45.
- Beenhakker, M., Huguenard, J. (2009). Neurons that fire together also conspire together: is normal sleep circuitry hijacked to generate epilepsy. *Neuron*, 62(5):612-632.
- Beierlein, M. (2014). Synaptic mechanisms underlying cholinergic control of the thalamic reticular nucleus neurons. *Journal of Physiol*, 592(19):4137-4145.
- Bertram, E. (2013). Neuronal circuits in epilepsy: do they matter? *Experimental Neurology*, 244:67-74.

- Bishop, S. (2007). Neurocognitive mechanisms of anxiety: an integrative account. *Trends in Cognitive Sciences*, 11(7):307-16.
- Broekkamp, C., Rijk, H., Joly-Gelouin, D., Lloyd, K. (1986). Major tranquilizers can be distinguished from minor tranquilizers on the basis of effects on marble burying and swim-induced grooming in mice. *European J of Pharmacology*, 126(3):223-229.
- Buzsáki, G., Smith, A., Berger, S., Fisher, L., Gage, F. (1990). Petit mal epilepsy and parkinsonian tremor: hypothesis of a common pacemaker. *Neuroscience*, 36(1)1-14.
- Castillo, C., Mendoza, S., Saavedra, J., Giordano, M. (2010). Lack of effect of intranigral transplants of a GABAergic cell line on absence seizures. *Epilepsy and Behavior*, 18(4):358-365.
- Crick, F. (1984). Function of the thalamic reticular complex: the searchlight hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(14):4586-90.
- Cryan, J., Holmes, A. (2005). The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Publishing Group*, 4(9):775-90.
- Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M., Marescaux, C. (1998). Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Progress in neurobiology*, 55(1):27-57.
- de la Mora, M., Gallegos-Cari, A., Arizmendi-García, Y., Marcellino, D., 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.

- Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica (2003). Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. México
- Enman, N., Zhang, Y., Unterwald, E. (2014). Connecting the pathology of posttraumatic stress and substance abuse disorders: monoamines and neuropeptides. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 117:61-9.
- Ferrarelli, F., Tononi, G. (2010). The Thalamic Reticular Nucleus and Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 37(2):306-315.
- Florán, B., Florán, L., Erlij, D., Aceves, J. (2004). Activation of dopamine D4 receptors modulates [3H]GABA release in slices of the rat thalamic reticular nucleus. *Neuropharmacology*, 46(4):497-503.
- Friedberg, E., Ross, D. (1993). Degeneration of rat thalamic reticular neurons following intrathalamic domoic acid injection. *Neuroscience Letters*, 151(1):115-119.
- Fuentealba, P., Steriade, M. (2005). The reticular nucleus revisited: Intrinsic and network properties of a thalamic pacemaker. *Progress in Neurobiology*, 75(2):125-141.
- Gasca-Martínez, D., Hernández, A., Sierra, A.V., Anaya-Martínez, V., Florán, B., Erlij, D., Aceves, J. (2010). Dopamine inhibits GABA transmission from the globus pallidus to the thalamic reticular nucleus via presynaptic D4 receptors. *Neuroscience*, 169(4):1672-1681.
- Guillery, R., Harting, J.K. (2003, Abril 2). Structure and Connections of the Thalamic Reticular Nucleus: Advancing Views over Half a Century. *The Journal of Comparative Neurology*, 463:360-371.
- Guillery, R., Feig, S., Lozsádi, D. (1998). Paying attention to the thalamic reticular nucleus. *Trends in Neuroscience*, 21(1):28-32.



- Heredia, L., Torrente, M., Colomina, M., Domingo, J. (2013). Assessing anxiety in C57BL/6J mice: a pharmacological characterization of the open-field and light/dark tests. *J of Pharmacol and Toxicol Methods*, 69(2):108-14.
- Hernández-González, A. (2013). *La hiperexcitabilidad neuronal de la abstinencia a GABA produce modificaciones conductuales en la rata hembra*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Hindriks, R., Meijer, H., van Gils, S., van Putten, M. (2013). Phase-locking of epileptic spikes to ongoing delta oscillations in non-convulsive status epilepticus. *Front in Systems Neuroscien*, 16(7):1-10.
- Hirata, A., Aguilar, J., Castro-Alamancos, M. (2006). Noradrenergic activation amplifies bottom-up and top-down signal-to-noise ratios in sensory thalamus. *J of Neuroscien*, 26(16):4426-4436.
- Kienast, T., Hariri, A., Schlagenhaut, F., Wrase, J., Sterzer, P., Buchholz, H., Smolka, MN., Gründer, G., Cumming, P., Kumakura, Y., Bartenstein, P., Dolan, R.J., Heinz, A. (2008). Dopamine in amygdala gates limbic processing of aversive stimuli in humans. *Nature Neuroscience*, 11(12):1381-2.
- Kim, M., Gee, D., Loucks, R., Davis, F., Whalen, P. (2011). Anxiety dissociates dorsal and ventral medial prefrontal cortex functional connectivity with the amygdala at rest. *Cerebral Cortex*, 21(7):1667-73.
- Kumar, V., Bhat, Z., Kumar, D. (2013). Animal models of anxiety: a comprehensive review. *J of Pharmacol and Toxicol Methods*, 68(2):175-183.
- Levita, L., Dalley, J., Robbins, T. (2002). Nucleus accumbens dopamine and learned fear revisited: a review and some new findings. *Behavioural brain research*, 137(1-2):115-27.

- Marini, G., Ceccarelli, P., Mancina, M. (2002). Thalamocortical dysrhythmia and the thalamic reticular nucleus in behaving rats. *Clinical Neurophysiology*, 113(7):1152-1164.
- Marini, G., Giglio, R., Macchi, G., Mancina, M. (1995). Nucleus reticularis thalami and neocortical paroxysms in the rat. *European J of Neuroscien*, 7(11):2301-2307.
- Martin, E., Ressler, K., Binder, E., Nemeroff, C. (2010). The neurobiology of anxiety disorders: brain imaging, genetics, and psychoneuroendocrinology. *Clinics in Laboratory Medicine*, 30(4):865-91.
- Mathews, A., Mackintosh, B., Fulcher, E. (1997). Cognitive biases in anxiety and attention to threat. *Trends in cognitive sciences*, 1(9):340-5.
- McAlonan, K., Brown, V., Bowman, E. (2000). Thalamic reticular nucleus activation reflects attentional gating during classical conditioning. *J of Neuroscience*, 20(23):8897-8901.
- McAlonan, K., Cavanaugh, J., Wurtz, R. (2006). Attentional modulation of thalamic reticular neurons. *J of Neuroscience*, 26(16):4444-4450.
- McCormick, D., Wang, Z. (1991). Serotonin and noradrenaline excite GABAergic neurones of the guinea-pig and cat nucleus reticularis thalami. *J of Physiol*, 442:235-255.
- Meyer, J., Quenzer, L. (2005). *Psychopharmacology: drugs, the brain and behavior*. Sinauer Associates, Incorporated. EUA.
- Milad, M., Pitman, R., Ellis, C., Gold, A., Shin, L., Lasko, N., Zeidan, MA., Handwerker, K., Orr, SP., Rauch, S. (2009). Neurobiological basis of failure to recall extinction memory in posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 66(12):1075-1082.
- Milad, M., Rauch, S., Pitman, R., Quirk, G. (2006). Fear extinction in rats: implications for human brain imaging and anxiety disorders. *Biological psychology*, 73(1):61-71.

- Miller, E., Cohen, J. (2001). An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual Review of Neuroscience*, 24:167-202.
- Montero, V. (1997). c-Fos induction in sensory pathways of rats exploring a novel complex environment: shifts of active thalamic reticular sectors by predominant sensory cues. *Neuroscience*, 76(4):1069-1081.
- National Comorbidity Survey (2007). Harvard Medical School. EUA [http://www.hcp.med.harvard.edu/ncs/ftplib/NCS-R\\_Lifetime\\_Prevalence\\_Estimates.pdf](http://www.hcp.med.harvard.edu/ncs/ftplib/NCS-R_Lifetime_Prevalence_Estimates.pdf)
- Njung'e, K., Handley, S. (1991). Evaluation of marble-burying behavior as a model of anxiety. *Pharmacol, Biochem and Behavior*, 38(1):63-67.
- Ochsner, K., Gross, J. (2005). The cognitive control of emotion. *Trends in Cognitive Sciences*, 9(5):242-9.
- Paxinos, G., Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5ta edición. Amsterdam: Academic Press. Londres, Reino Unido.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S., Briley, M. (1985). Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J of Neuroscience Methods*, 14(3):149-167.
- Pezze, M., Feldon, J. (2004). Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Progress in Neurobiology*, 74(5):301-320.
- Phelps, E., LeDoux, J. (2005). Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron*, 48(2):175-187.

- Picazo, O., Chuc-Meza, E., Anaya-Martínez, V., Jiménez, I., Aceves, J., García-Ramírez, M. (2009). 6-Hydroxydopamine lesion in thalamic reticular nucleus reduces anxiety behavior in the rat. *Behavioural Brain Research*, 197(2):317-322.
- Picazo, O., Estrada-Camarena, E., Hernández-Aragon, A. (2006). Influence of the post-ovariectomy time frame on the experimental anxiety and the behavioural actions of some anxiolytic agents. *European J of Pharmacol*, 530(1-2):88-94.
- Pinault, D. (2004). The thalamic reticular nucleus: structure, function and concept. *Brain Research Reviews*, 46(1):1-31.
- Pollack, MH., Otto, MW., Roy-Byrne, PP.; Couplan, JD., Rothbaum, BO.; Simon, NM., Gorman, JM. (2008). Novel treatment approaches for refractory anxiety disorders. *Depression and Anxiety*, 25:467-476.
- Rice, D., Barone, S. (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence for Humans and Animal Models. *Environmental Health Perspectives*, 108(3):511-533.
- Ross, D., Graham, D. (1993). Selective loss and selective sparing of neurons in the thalamic reticular neurons following human cardiac arrest. *J of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 13(4):558-567.
- Sharma, S., Rakoczy, S., Brown-Borg, H. (2010). Assessment of spatial memory in mice. *Life Sciences*, 87(17-18):521-36.
- Steriade, M. (2005). Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends in Neuroscience*, 28(6):317-324.
- Sullivan, R., Gratton, A. (2002). Behavioral effects of excitotoxic lesions of ventral medial prefrontal cortex in the rat are hemisphere-dependant. *Brain Research*, 927(1):69-79.

- Sylvers, P., Lilienfeld, S., LaPrairie, J. (2010). Differences between trait fear and trait anxiety: implications for psychopathology. *Clinical Psychology Review*, 31(1):122-137.
- Thomas, A., Burant, A., Bui, N., Graham, D., Yuva-Paylor, L., Paylor, R. (2009). Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. *Psychopharmacology*, 204(2):361-373.
- Torres-García, ME., Solís, O., Patricio, A., Rodríguez-Moreno, A., Camacho-Abrego, I., Limón, ID., Flores, G. (2012). Dendritic morphology changes in neurons from the prefrontal cortex, hippocampus and nucleus accumbens in rats after lesion of the thalamic reticular nucleus. *Neuroscience*, 223:429-438.
- Uusi-Oukari, M., Korpi, E. (2010). Regulation of GABA(A) receptor subunit expression by pharmacological agents. *Pharmacological reviews*, 62(1):97-135.
- van Gaalen, M., Steckler, T. (2000). Behavioural analysis of four mouse strains in an anxiety test battery. *Behavioural Brain Research*, 115(1):95-106.
- Wan, F., Swerdlow, N. (1996). Sensorimotor gating in rats is regulated by different dopamine-glutamate interactions in the nucleus accumbens core and shell subregions. *Brain research*, 722(1-2):168-76.
- Weddell, R. (2004). Subcortical modulation of spatial attention including evidence that the Sprague effect extends to man. *Brain and Cognition*, 55(3):497-506.
- Weese, G., Phillips, J., Brown, V. (1999). Attentional orienting is impaired by unilateral lesions of the thalamic reticular nucleus in the rat. *J of Neuroscience*, 19(22):10135-10139.

- Yi, K., Cai, Z., Covey, D., Simpkins, J. (2008). Estrogen receptor-independent neuroprotection via protein phosphatase preservation and attenuation of persistent extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation. *J of Pharmacol and Experimental Therapeutics*, 324(3):1188-95.
- Zikopoulos, B., Barbas, H. (2006). Prefrontal projections to the thalamic reticular nucleus form a unique circuit for attentional mechanisms. *J Neurosci*, 26(28):7348-7361.
- Zikopoulos, B., Barbas, H. (2007). Circuits for multisensory integration and attentional modulation through the prefrontal cortex and the thalamic reticular nucleus in primates. *Reviews in the neurosciences*, 18(6):417-438.
- Zikopoulos, B., Barbas, H. (2012). Pathways for emotions and attention converge on the thalamic reticular nucleus in primates. *J Neurosci*, 32(15):5338-5350.