



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**Papel del receptor alfa-2 noradrenérgico en la  
modulación amigdalina de la ansiedad**

**T E S I S**

Que para obtener el título de

**Licenciado en Psicología**

P R E S E N T A

**Luis Angel Cruz Montesinos**

Director

Dr. Miguel Angel Pérez de la Mora

Revisora

Dra. Laura Elisa Ramos Languren

Sinodales

Dr. Hugo Sánchez Castillo

Dra. Livia Sánchez Carrasco

Dra. Claudia Gómez Acevedo



Instituto de  
Fisiología  
Celular,  
U N A M

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Este trabajo de tesis fue realizado bajo la dirección del Dr. Miguel Pérez de la Mora, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM; con el apoyo parcial de la Dirección General del Personal Académico (Proyectos: IN 206820) y del programa Ayudante de Investigador del CONACyT (EXP. AYTE: 16769).

## DEDICATORIAS

Principalmente quiero dedicar este trabajo a mi madre, Crispina Montesinos Mejía. Por tu fuerza y nobleza, que han inspirado en mí la virtud de no darme por vencido. A tu arduo trabajo, tu confianza incondicional y amor le debo todo lo que tengo, lo que he logrado y lo que soy; si existiera alguien que mereciera este logro más que yo, serías tú. Te amo, mamá.

A mi padre Godofredo Cruz Mayoral, por cuidar de mí y la familia desde siempre, me has brindado siempre un buen ejemplo de cómo ser un padre, fomentando en mí buenos valores y apoyo cuando lo necesité. Además de tu trabajo duro de todos los días. Eres un gran padre, te amo.

A mi hermana Janet Cruz Montesinos, por ser una excelente hermana mayor, eres uno de mis principales apoyos y ejemplos desde mi niñez. Hemos compartido toda nuestra vida e innumerables valores he aprendido de ti. Gracias por todo, sé que siempre estaremos el uno para el otro, te amo hermana.

A Brenda Karina Martínez Martínez, por haber sido la mejor compañera que pude tener en esta etapa y haberte convertido en una de las personas más importantes para mí. La felicidad que siento por haber recorrido este camino sólo se compara con la alegría que tengo de haberte encontrado en él. Te amo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por formarme personal y profesionalmente, además de convertirse en mi segunda casa y cultivar en mí el amor por la ciencia, la cultura y las artes.

A la Facultad de Psicología UNAM, por haberme permitido aprender en sus instalaciones y desarrollarme profesionalmente como psicólogo en la mejor institución del país. Es un orgullo pertenecer aquí.

Al Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, por permitirme hacer uso de sus valiosas instalaciones, claves en el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Miguel Pérez de la Mora, por admitirme en su laboratorio y brindarme su excelente guía en este proyecto. La calidad humana con la que me trató y recibir su apoyo en todo momento. Aprendí mucho de usted.

A la DGAPA (Proyectos: IN 206820) y el CONACyT (EXP. AYTE: 16769), por haber financiado la realización de este proyecto.

A la técnico académico de TC. Minerva Crespo Ramírez, por su comprensión y excelente enseñanza en las técnicas empleadas para la realización de esta tesis.

A la Dra. Luisa Lilia Rocha Arrieta y su equipo de trabajo, cuya pericia en la técnica de HPLC posibilitó la evaluación de noradrenalina en este trabajo.

A Juan Carlos Hernández Mondragón por haber contribuido en la creación intelectual de este trabajo y por sus valiosas aportaciones en el desarrollo del mismo.

A mi revisora la Dra. Laura y mis sinodales el Dr. Hugo, la Dra. Claudia y la Dra. Livia, por su contribución a mi trabajo y su disposición.

A la Escuela Nacional Preparatoria no. 5 “José Vasconcelos” y su excelente cuadrilla docente, por ser mi primer acercamiento a la UNAM y la cuna de mis deseos profesionales.

A mis primos Daniel y Miguel Bautista, por los buenos momentos compartidos desde pequeños y que a pesar de la distancia hemos mantenido el aprecio de familia, en los buenos y malos momentos.

A mi amigo Ricardo Pang, por ser uno de mis más grandes amigos en la vida, por los buenos momentos compartidos desde la prepa y por siempre haber contado con tu apoyo en los momentos más duros que he vivido.

A mi amigo Roy, por haber sido un amigo muy leal durante todo nuestro camino en la facultad y convertirme en uno de mis mejores amigos. Recibir tu apoyo en esta etapa fue muy valioso para mí.

A mis amigas Dani y Lu, por nuestra buena amistad durante la carrera y estar en los buenos y malos momentos conmigo, su apoyo y amistad fueron muy importantes y valiosos para mí en esta etapa.

A cada uno de mis animales de laboratorio, por haber entregado sus vidas para la creación de este trabajo. Siempre quise tratarlos con respeto y si existió una sola cosa realmente dura en este trabajo fue la necesidad de tomar sus vidas. Quisiera que de alguna forma supieran que sus vidas no fueron en vano.

## ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	10
RESUMEN .....	12
INTRODUCCIÓN .....	13
MARCO TEÓRICO.....	15
CAPÍTULO I. ANSIEDAD.....	15
Antecedentes históricos.....	15
Diferencias y similitudes entre ansiedad, estrés y miedo. ....	16
Definición actual.....	17
CAPÍTULO II. LOS TRASTORNOS DE ANSIEDAD .....	18
Definición .....	18
Epidemiología.....	18
Generalidades.....	18
Fobias específicas .....	19
Criterios diagnósticos de las fobias específicas .....	20
Prevalencia de las fobias específicas .....	21
Agorafobia .....	21
Criterios diagnósticos de la agorafobia.....	22
Prevalencia de la agorafobia.....	23
Trastorno de ansiedad generalizada .....	23
Criterios diagnósticos del trastorno de ansiedad generalizada .....	23
Prevalencia del TAG.....	24

CAPÍTULO III. MODELOS ANIMALES DE ANSIEDAD .....	25
Validación de los modelos animales.....	25
Clasificación de los modelos animales .....	26
La prueba del enterramiento defensivo.....	30
CAPÍTULO IV. LA AMÍGDALA CEREBRAL .....	34
Complejo basolateral (BLA) .....	36
Núcleo medial amigdalino (MeA) .....	37
Islas intercaladas paracapsulares. ....	37
Núcleo central amigdalino (CeA).....	38
Neurotransmisores y receptores presentes en la amígdala cerebral. ....	41
CAPÍTULO V. ADRENALINA Y NORADRENALINA.....	45
Etimología.....	45
Síntesis y producción .....	45
Metabolismo y regulación de la noradrenalina. ....	46
Diferencias y similitudes entre la adrenalina y la noradrenalina .....	48
Eje HPA y SAM.....	49
Sistemas adrenérgicos en el SNC .....	51
CAPÍTULO VI. RECEPTORES ADRENÉRGICOS .....	52
Receptores beta .....	53
Receptores alfa 1 .....	53
Receptores alfa 2.....	54
Participación de los receptores alfa 2 en la ansiedad .....	57
Estudio de los receptores alfa 2 presinápticos.....	58
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	60

OBJETIVOS .....	62
Objetivo General.....	62
Objetivos Específicos.....	62
Preguntas de investigación.....	63
 HIPÓTESIS .....	 63
 MÉTODO .....	 64
Sujetos .....	64
Escenario .....	64
Diseño de investigación.....	64
Pruebas conductuales .....	65
Enterramiento defensivo .....	65
Prueba de campo abierto .....	65
Cirugía Estereotáxica .....	67
Variables .....	69
Experimentos y definición de grupos .....	71
 PROCEDIMIENTO .....	 74
Preparación de animales.....	74
Preparación de animales (Experimento 3).....	74
Protocolo de la prueba conductual.....	75
Habitación.....	75
Administración de fármacos.....	75
Prueba del enterramiento defensivo.....	76
Prueba de campo abierto .....	77
Evaluación de noradrenalina .....	77
Histología.....	78
Análisis Estadísticos.....	78

RESULTADOS.....	81
Histología.....	81
Resultados experimento 1 .....	82
Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas.....	82
Prueba de Enterramiento Defensivo .....	82
Locomoción. ....	83
Resultados experimento 2 .....	85
Prueba de normalidad y homogeneidad.....	85
Prueba de Enterramiento Defensivo. ....	85
Locomoción .....	86
Resultados Experimento 3 .....	88
Prueba de normalidad y homogeneidad.....	88
Concentración de noradrenalina. ....	88
Prueba de enterramiento defensivo.....	90
Locomoción .....	91
DISCUSIÓN .....	92
PERSPECTIVAS .....	97
CONCLUSIONES .....	98
REFERENCIAS.....	99

## ABREVIATURAS

APA	Asociación psiquiátrica americana.
ARs	Receptores adrenérgicos.
BLA	Complejo basolateral amigdalino.
BNST	Núcleo cama de la estría terminal.
CeA	Núcleo central de la amígdala cerebral.
CeL	Región lateral del núcleo central amigdalino.
CeM	Región medial del núcleo central amigdalino.
CIE 10	Clasificación internacional de enfermedades, 10. <sup>a</sup> edición.
COMT	Catecol-O-Metiltransferasa.
DSM V	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales quinta edición.
IM	Isla Principal.
IPC	Islas intercaladas paracapsulares.
La	Núcleo lateral de la amígdala cerebral

MAO	Monoamina Oxidasa
MDMR	Médula dorsomedial rostral.
MeA	Núcleo medial de la amígdala cerebral.
MVLC	Médula ventrolateral caudal.
MVLR	Médula ventrolateral rostral.
NAc	Núcleo Acumbens.
NET	Transportador de noradrenalina.
OMS	Organización mundial de la salud.
PFC	Corteza prefrontal.
PNMT	Enzima feniletanolamina-N-metiltransferasa.
PVN	Núcleo Paraventricular.
SNA	Sistema nervioso autónomo.
SNC	Sistema nervioso central.
SNP	Sistema nervioso periférico.
TAG	Trastorno de ansiedad generalizada.

## RESUMEN

La ansiedad se define como un estado emocional displacentero que se presenta cuando un individuo se enfrenta a una situación amenazante. La amígdala cerebral tiene un papel primordial en la producción y modulación de la ansiedad, destacando la función de su núcleo central (CeA), que actúa como una estación de saliencia que comunica a múltiples áreas cerebrales para generar la respuesta de ansiedad. La ansiedad conduce a la liberación de noradrenalina que es modulada por los receptores alfa 2 noradrenérgicos distribuidos en el SNC. El presente estudio tuvo el objetivo de conocer el papel que los receptores alfa 2 noradrenérgicos, distribuidos presinápticamente en el CeA, tienen en la modulación de la conducta de ansiedad en la prueba de enterramiento defensivo; mediante microinfusión farmacológica en el CeA y depleción de receptores presinápticos con la neurotoxina DSP4. Los resultados mostraron que la microinfusión directa en el CeA del agonista a receptores alfa 2 noradrenérgicos clonidina generó efectos ansiolíticos en la prueba del enterramiento defensivo ( $p < .05$ ) que fueron prevenidos por la administración intraperitoneal del antagonista yohimbina, mostrando así la selectividad de los receptores alfa 2 en estos efectos; además la depleción de los receptores alfa 2 presinápticos con DSP4 condujo a la anulación de los efectos ansiolíticos observados ( $p < .05$ ). Este estudio demuestra la importancia que los receptores alfa 2 noradrenérgicos distribuidos en el CeA tienen para modular la conducta de ansiedad, además que dichos efectos están mediados por los receptores presinápticos, obteniendo así un mayor entendimiento del papel de estos receptores en la ansiedad.

*Palabras clave: Ansiedad, receptores alfa 2 noradrenérgicos, CeA, enterramiento defensivo, clonidina, yohimbina, DSP4.*

## INTRODUCCIÓN

Los trastornos de ansiedad se encuentran entre los trastornos psiquiátricos más comunes en el mundo, con una prevalencia que alcanza casi el 70% entre personas con desórdenes crónicos (Remes, 2016). Estos trastornos son expresión de la activación patológica del sistema de defensa/alarma de un individuo. Cuando aparece un fenómeno psicopatológico ansioso, como un ataque de pánico inesperado, como expresión de la función anormal de las defensas mentales, el propio sistema de defensa reacciona activando otros módulos protectores, por ejemplo, la generación de ansiedad anticipatoria o evitación de la situación u objeto que evoca el peligro percibido. Estas acciones promueven la capacidad del organismo para superar o adaptarse al fenómeno psicopatológico ansioso (Perna, 2013).

Una de las consecuencias fisiológicas que se generan a partir de la ansiedad es la liberación de adrenalina y noradrenalina (epinefrina o norepinefrina) tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en el periférico (SNP), a partir de neuronas noradrenérgicas situadas dentro del locus coeruleus en el SNC, y de las glándulas suprarrenales en el SNP, que preparan al organismo para dar una respuesta de pelea o de huida (Tortora, 2002).

La noradrenalina centralmente ejerce su acción mediante la activación de receptores llamados adrenérgicos (ARs), que se encuentran ampliamente distribuidos en el SNC (Brunton, 2018). El receptor alfa 2 noradrenérgico posee la característica de regular los niveles de noradrenalina en las neuronas noradrenérgicas al ubicarse presinápticamente, siendo el único receptor de la subfamilia alfa cuya acción no promueve sólo actividad sináptica, pues ejerce un papel fundamental de

autorregulación en las neuronas noradrenérgicas, distribuidas en el SNC (Ciccarelli, 2017).

La amígdala cerebral es una estructura ampliamente estudiada y relacionada a las emociones; enfatizando un rol de vital importancia en la génesis y regulación del miedo, así como en la ansiedad. Se encuentra ampliamente innervada por neuronas noradrenérgicas localizadas en el locus coeruleus y otras estructuras, con una extensa distribución de receptores alfa-2 dentro de sus núcleos. Dicha estructura cerebral se compone principalmente de tres núcleos: complejo basolateral (BLA), núcleo medial (MeA) y núcleo central (CeA).

Al BLA se le han atribuido principalmente funciones de plasticidad y memoria del miedo (Blair, 2001; Rodríguez 2004); al núcleo medial, por su conexión directa con el bulbo olfatorio, se le han asignado funciones aversivas relacionadas a estímulos olfativos (Palomares-Castillo, 2012); mientras que el núcleo central es conocido como una central eferente de la respuesta ansiogénica y cuya señal excitatoria eferente genera una respuesta de lucha o de huida (Ciocchi, 2010; Corbit, 2005).

Dada la importancia del CeA en la producción de la ansiedad y el papel regulatorio de los receptores alfa-2 sobre los niveles de noradrenalina, es posible que dichos receptores jueguen un papel de suma importancia en la regulación amigdalina de la ansiedad.

## MARCO TEÓRICO

### CAPÍTULO I. ANSIEDAD

#### **Antecedentes históricos.**

Partiendo de su significado etimológico, la palabra “ansiedad” tiene su origen directo del latín, “anxietas”. Este término latino proviene, a su vez, de la raíz indoeuropea *angh* de la cual se deriva no sólo el vocablo *anxietas*, sino también la palabra *ango*, que significa angustia (Sarudiansky, 2013). El origen de dicho concepto ha transmutado a lo largo de las décadas hasta tomar su significado actual, para diferenciarse de otros significados y convertirse en lo que en este momento se conoce como ansiedad.

Los orígenes del reconocimiento de la sintomatología de la ansiedad, puede remontarse desde la época de los filósofos griegos. Tal como plantean Papakostas, Eftychiadis, Papakostas y Christodoulou (2003), pueden observarse condiciones homologables a estados de ansiedad en textos de Sófocles, Platón o Arateo. En el siglo V a. C., en aforismos y sentencias Hipócrates señalaba sobre un enfermo: “en el día tercero estuvo muy caído, tuvo sed, congoja en el estómago, mucha inquietud y aflicción con angustias, deliró”.

A lo largo del siglo XIX, los estudiosos del tema comenzaron a diferenciar un componente físico de uno psicológico, dando origen a un componente de naturaleza “mental” que se integraría al significado de la ansiedad. Por ejemplo, Brissaud en 1890, definía a la angustia como un trastorno físico caracterizado por una sensación de constricción, mientras que la ansiedad se correspondía con un trastorno psíquico que contiene sentimientos de inseguridad.

## **Diferencias y similitudes entre ansiedad, estrés y miedo.**

En múltiples estudios contemporáneos se hace referencia al miedo o al estrés como sinónimos de la ansiedad; estos términos poseen cercanías conceptuales entre sí, se consideran mecanismos evolucionados de adaptación que potencian la supervivencia de nuestra especie ante amenazas (OMS 2019; Alfonso, 2015; Thyer, 1987).

El miedo y la ansiedad son fenómenos estrechamente relacionados; el miedo representa una reacción a la amenaza inminente percibida en el presente, mientras que la ansiedad está más orientada hacia el futuro, refiriéndose a la amenaza anticipada percibida. Una característica clave de diferenciación entre los trastornos de ansiedad y los trastornos relacionados con el miedo son los focos de aprehensión específicos del trastorno, es decir, el estímulo o la situación que desencadena el miedo o la ansiedad (OMS, 2019; Marks, 1986).

El estrés se define como una reacción a cambios en el entorno o fuerzas que superan los recursos de una persona. Éste tiene su origen en el estudio de la Física, en los albores del siglo XVII, como la respuesta intrínseca del objeto propio a su estructura, provocada por la fuerza concurrente. En esa época, el inglés Hooke encontró una gran relación entre la capacidad de los procesos mentales de resistir cargas y la capacidad de las personas para soportar las demandas ambientales (Alfonso, 2015)

Tanto la ansiedad como el miedo y el estrés presentan manifestaciones similares, en ellos se presentan pensamientos de peligro, sensaciones de aprensión, reacciones fisiológicas y respuestas motoras. Además, presentan manifestaciones fisiológicas similares, como taquicardias, sudoración o tensión muscular, por lo cual su estudio a nivel orgánico puede ser equiparable (APA; 2013, OMS, 2019; Campbell, 1986)

## **Definición actual.**

La ansiedad se define en la actualidad como un estado emocional displacentero que se presenta al enfrentarse un individuo ante una situación amenazante o estresante, ya sea ésta real o potencial, y que va acompañada de cambios físicos, somáticos y psicológicos. Esta respuesta es normal y adaptativa cuando el individuo se enfrenta a un peligro que lo amenaza potencialmente, pero si es persistente y abrumadora podría considerarse como un trastorno o síntoma de alguna afección médica o psiquiátrica (APA, 2013; Dean, 2016; Secretaria de Salud, 2015).

## **CAPÍTULO II. LOS TRASTORNOS DE ANSIEDAD**

### **Definición**

Según la Asociación Psiquiátrica Americana (APA) en el manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales quinta edición (DSM V), los trastornos de ansiedad son desórdenes mentales caracterizados por la presencia excesiva de miedo o ansiedad, que generan en el individuo alteraciones conductuales asociadas a ello (APA, 2013; OMS, 2019). Por su parte, la Organización Mundial de la Salud a través de su clasificación internacional de enfermedades, undécima edición (CIE 11), caracteriza además a los trastornos de ansiedad como lo suficientemente graves para provocar un malestar o deterioro significativo en el funcionamiento personal, familiar, social, educativo u otras áreas importantes del individuo (OMS, 2019).

### **Epidemiología**

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2017) más de 260 millones de personas en el mundo padecen algún trastorno de ansiedad. En México se estima que el 12% de la población adulta los padece (Secretaría de Salud, 2015).

### **Generalidades**

De acuerdo a lo establecido en el DSM V (APA, 2013), los trastornos de ansiedad se diferencian del miedo transitorio o la ansiedad normal adaptativa, en que éstos son persistentes en el tiempo y excesivos, presentando un temor sobrestimado sobre el objeto o situación al que se evita. Para considerarse un trastorno, deben tener al menos una duración de 6 meses o más presentando la sintomatología ansiosa cotidianamente; no obstante esta ventana temporal sólo debe ser considerada una guía

para el diagnóstico en adolescentes y adultos, permitiendo una flexibilidad más corta para el diagnóstico en niños.

La mayoría de estos trastornos son desarrollados en la infancia y tienden a persistir en la edad adulta si no son tratados; por otra parte, son más prevalentes en mujeres que en hombres, con una proporción aproximada de 2:1. Cada uno de estos trastornos es diagnosticado cuando la naturaleza de los síntomas no es atribuible a efectos fisiológicos de sustancias, medicamentos u otras afecciones médicas, además de no ser explicados mejor por algún otro trastorno mental (Pelissolo, 2019; APA, 2013).

La clasificación de estos trastornos está determinada según el tipo de objetos o situaciones que inducen el miedo, la ansiedad o las conductas evitativas, y según la cognición o creencias asociadas. Tomando como referente el manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales DSM V (APA, 2013), se enumeran a continuación los principales trastornos de ansiedad, sus características y síntomas.

### **Fobias específicas**

Estos trastornos están caracterizados principalmente por la presencia de miedo o ansiedad a situaciones u objetos claramente circunscritos, que se denominan *estímulos fóbicos*. Las categorías de las situaciones u objetos temidos se usan como especificadores del trastorno. Muchas personas temen a objetos, situaciones o estímulos fóbicos de más de una categoría, simultáneamente (Reyes y López, 2019; APA, 2013).

## **Criterios diagnósticos de las fobias específicas**

Existen una serie de criterios diagnósticos para determinar que los síntomas corresponden a una fobia específica y no a los temores normales o transitorios que puede padecer la población general (Reyes y López, 2019; APA 2013).

1. Miedo o ansiedad intensa por un objeto o situación específica (p. ej., volar, alturas, animales, administración de una inyección, ver sangre).
2. El objeto o la situación fóbica casi siempre provoca miedo o ansiedad inmediata.
3. El objeto o la situación fóbica se evita o resiste activamente con miedo o ansiedad intensa.
4. El miedo o la ansiedad es desproporcionada al peligro real que plantea el objeto o situación específica y al contexto sociocultural.
5. El miedo, la ansiedad o la evitación es persistente, y dura típicamente seis o más meses.
6. El miedo, la ansiedad o la evitación causa malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento.
7. La alteración no se explica mejor por los síntomas de otro trastorno mental, como el miedo, la ansiedad y la evitación de situaciones asociadas a síntomas tipo pánico u otros síntomas incapacitantes, objetos o situaciones relacionados con obsesiones (como en el trastorno obsesivo-compulsivo), recuerdo de sucesos traumáticos (como en el trastorno de estrés postraumático), dejar el hogar o separación de las figuras de

apego (como en el trastorno de ansiedad por separación), o situaciones sociales (como en el trastorno de ansiedad social).

### **Prevalencia de las fobias específicas**

La prevalencia anual en América Latina es de aproximadamente del 2 al 4% de la población general. En México, la prevalencia de los diferentes trastornos fóbicos en la población general no es superior al 2.8% ni menor del 2.1%; además, las mujeres se ven afectadas con mayor frecuencia que los varones en una proporción aproximada de 2:1 (APA, 2013; Caraveo-Anduaga, 2000; Reyes y López, 2019).

### **Agorafobia**

La característica esencial de la agorafobia es un miedo o ansiedad excesiva provocada por la exposición real o anticipada de un amplio marco de situaciones en las que el individuo se ve expuesto fuera de su hogar. Los individuos suelen experimentar pensamientos de que algo terrible podría suceder en el exterior, donde difícilmente podrían recibir ayuda (APA, 2013).

En sus formas más severas, la agorafobia puede motivar que los individuos se queden totalmente confinados en casa, que no puedan salir de su hogar y que dependan de los demás para los servicios o la asistencia e incluso para las necesidades básicas. El diagnóstico de agorafobia se encuentra estrechamente vinculado a la presencia de ataques de pánico o síntomas similares al pánico (Porter, 2015).

## **Criterios diagnósticos de la agorafobia**

A. Miedo o ansiedad intensa acerca de dos (o más) de las cinco situaciones siguientes:

1. Uso del transporte público (p. ej., automóviles, autobuses, trenes, barcos, aviones).
2. Estar en espacios abiertos (p. ej., zonas de estacionamiento, mercados, puentes).
3. Estar en sitios cerrados (p. ej., tiendas, teatros, cines).
4. Hacer cola o estar en medio de una multitud.
5. Estar fuera de casa solo.

B. El individuo teme o evita estas situaciones debido a la idea de que escapar podría ser difícil o podría no disponer de ayuda si aparecen síntomas tipo pánico u otros síntomas incapacitantes.

C. Las situaciones agorafóbicas casi siempre provocan miedo o ansiedad.

D. Las situaciones agorafóbicas se evitan activamente, requieren la presencia de un acompañante.

E. El miedo o la ansiedad es desproporcionado al peligro real que plantean las situaciones agorafóbicas y el contexto sociocultural.

F. El miedo, la ansiedad o la evitación es continuo, y dura típicamente seis o más meses.

## **Prevalencia de la agorafobia**

Cada año, entre el 0,3% y el 1,7 % de los adolescentes y de los adultos es diagnosticado de agorafobia. Por otra parte, mujeres tienen mayor probabilidad de desarrollar el trastorno que los varones. La agorafobia puede ocurrir en la infancia, pero la incidencia máxima se encuentra en la adolescencia tardía y en la vida adulta temprana (APA, 2013; Ayala, 2012).

## **Trastorno de ansiedad generalizada**

El trastorno de ansiedad generalizada (TAG) es distinguido por una ansiedad y preocupación excesiva sobre diversos acontecimientos o actividades, que son desproporcionadas al impacto real del suceso anticipado. Al individuo le resulta difícil mantener el control de los pensamientos catastróficos, que interfieren con la atención en sus actividades diarias, además suelen preocuparse todos los días de circunstancias rutinarias de la vida, como lo son el trabajo, la escuela, la salud de los miembros de la familia, etc. Sus manifestaciones clínicas principales son un estado de anticipación aprensiva y dificultad para controlar dicha preocupación (APA, 2013; Langarita y Gracia, 2019).

## **Criterios diagnósticos del trastorno de ansiedad generalizada**

1. Ansiedad y preocupación excesiva (anticipación aprensiva), que se produce durante más días de los que ha estado ausente durante un mínimo de seis meses, en relación con diversos sucesos o actividades (como en la actividad laboral o escolar).

2. Al individuo le es difícil controlar la preocupación.

3. La ansiedad y la preocupación se asocian a tres (o más) de los seis síntomas siguientes (y al menos algunos síntomas han estado presentes durante más días de los que han estado ausentes durante los últimos seis meses):

- a. Inquietud o sensación de estar atrapado o con los nervios de punta.
- b. Facilidad para fatigarse.
- c. Dificultad para concentrarse o quedarse con la mente en blanco.
- d. Irritabilidad.
- e. Tensión muscular.

4. Problemas de sueño (dificultad para dormirse o para continuar durmiendo, o sueño inquieto e insatisfactorio).

5. La ansiedad, la preocupación o los síntomas físicos causan malestar clínicamente significativo, deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento,

6. La alteración no se puede atribuir a los efectos fisiológicos de una sustancia, ni a otra afección médica.

7. La alteración no se explica mejor por otro trastorno mental.

### **Prevalencia del TAG**

La prevalencia anual del trastorno de ansiedad generalizada en Estados Unidos es del 0,9 % entre los adolescentes y del 2,9 % entre los adultos en la comunidad. La prevalencia anual del trastorno en otros países varía del 0,4 al 3,6 % (APA, 2013).

### **CAPÍTULO III. MODELOS ANIMALES DE ANSIEDAD**

A pesar de las indudables diferencias entre la complejidad del cerebro humano en comparación con otras especies de vertebrados, los sistemas neurales que detectan el peligro y generan la ansiedad se encuentran evolutivamente conservados y guardan cierta similitud (LeDoux, 2012). Debido a este supuesto es que los estudios encargados de conocer el sustrato neurobiológico y fisiológico de la ansiedad son posibles gracias a los modelos experimentales probados en animales de laboratorio (Phelps y LeDoux, 2005; Papini, 2009).

Además, los modelos animales son particularmente útiles en situaciones en las que el impacto del estrés no puede estudiarse en humanos por razones éticas; por otra parte, para la psicopatología se han convertido en una herramienta invaluable en el análisis de multitud de causas, genéticas, ambientales o farmacológicas, que pueden provocar síntomas homólogos a los de los pacientes con un trastorno específico (Shekhar, McCann y Meaney, 2001; Kumar, Bhat, y Kumar, 2013).

Estos modelos han posibilitado el estudio de los mecanismos neurales, comunes o específicos, intervinientes en los procesos neurobiológicos de la conducta, así como la evaluación de sustancias con capacidad de modularla; generando a través de ellos importantes avances en el ámbito de la psicofarmacología experimental y clínica (Polanco, Vargas y Góngora, 2011).

#### **Validación de los modelos animales**

Un proceso importante para el desarrollo e implementación de los modelos animales es el establecimiento de su validez. Para confirmar que el modelo está representando fielmente el fenómeno de estudio existen tres tipos de validez que generalmente son

aplicados a los modelos animales: la validez de facie, la validez de constructo y la validez predictiva (Bourin et. al., 2007; Kumar, Bhat, y Kumar, 2013).

La validez de facie, se obtiene cuando el modelo es fenotípicamente similar al fenómeno de estudio, lo que implica que el animal genere una respuesta idéntica tanto conductual como fisiológicamente a la observada en los humanos. La validez predictiva, por su parte, hace referencia a que el modelo debe ser sensible a agentes farmacológicos que han probado tener un efecto en la conducta de ansiedad (Polanco, Vargas y Góngora, 2011).

Finalmente, la validez de constructo se refiere a la similitud que posee el modelo animal con el fundamento teórico que subyace al comportamiento humano. El juicio sobre este tipo de validez implica asumir la posibilidad de que ciertas explicaciones o teorías/hipótesis sobre la psicopatología humana (o de aspectos específicos o síntomas) puedan ser aplicables a otras especies (Escorihuela y Fernández, 1998; Kumar, Bhat, y Kumar, 2013).

Cada tipo de validez es independiente una de otra, de esta forma un modelo animal puede poseer validez de cara y constructo pero no predictiva, o de constructo pero no las demás.

### **Clasificación de los modelos animales**

Los modelos animales de ansiedad pueden clasificarse en respuestas condicionadas e incondicionadas (véase Tabla 1); el primero involucra las respuestas condicionadas del animal a eventos estresantes y a menudo dolorosos, mientras que el segundo incluye paradigmas de base etológica e involucra las reacciones espontáneas o

naturales del animal a los estímulos de estrés que no involucran explícitamente dolor o malestar (Bourin et al., 2007; Kumar, Bhat, y Kumar, 2013; Rodgers, 1997).

Paralelamente como se puede observar en la Tabla 2, los modelos de ansiedad también pueden clasificarse por la naturaleza de sus estímulos, exteroceptivos e interoceptivos (Divekar, Oswal, Bagul y Antre, 2011; Polanco, Vargas y Góngora, 2011).

**Tabla 1***Clasificación de los modelos de ansiedad según su respuesta*

---

Incondicionado	Condicionado
Laberinto elevado en forma de signo “+”	Conflicto de Geller-Seifter
Caja luz-oscuridad	Conflicto de Voguel
Interacción social	Respuesta emocional condicionada (CER)
Campo abierto	Aversión condicionada al sabor (CTA)
Vocalizaciones ultrasónicas	Sobresalto potenciado por miedo
Prueba de escalera	Evitación activa/pasiva
Tablero con agujero	Modelo de Thiébot
Depredador	Estimulación eléctrica cerebral
Aislamiento social	Prueba de las cuatro placas
Enterramiento defensivo	Derrota social

---

*Nota.* Pruebas experimentales conductuales de ansiedad, clasificados según la cualidad condicionada o incondicionada (Zhang et al., 2020; Mumtaz et al., 2018; Polanco, Vargas y Góngora, 2011; Bourin et al., 2007; Kumar, Bhat, y Kumar, 2013).

**Tabla 2**

*Ejemplos de modelos de ansiedad clasificados según la naturaleza de su estímulo.*

---

Interoceptivo	Exteroceptivo
1. Estimulación eléctrica cerebral	1. Presentación de estímulos independiente de la respuesta
2. Manipulación farmacológica	Prueba de campo abierto
Ansiedad inducida por cafeína	Laberinto elevado en forma de signo “+”
Ansiedad inducida por yohimbina	Caja de prueba “blanco y negro”
	Enterramiento Defensivo
	2. Presentación de estímulos dependiente de la respuesta
	Prueba de Geller-Seifter
	Prueba de interacción social
	Sobresalto acústico

---

*Nota.* En la tabla pueden observarse ejemplos de la clasificación de los modelos de ansiedad de acuerdo al estímulo que se presenta, ya sea de forma exteroceptiva o interoceptiva (Divekar, Oswal, Bagul y Antre, 2011; Polanco, Vargas y Góngora, 2011).

## **La prueba del enterramiento defensivo**

Propuesta por Pinel y Treit en 1978, la prueba del enterramiento defensivo es un modelo conductual para evaluar ansiedad en ratas. En esta prueba, se explota la tendencia natural que los roedores poseen para enterrar objetos que les generen, o puedan generar, algún daño o amenaza (De Boer y Koolhaas, 2003; Pinel y Treit, 1978).

Descubierta por las observaciones realizadas por Hudson (1950) el enterramiento defensivo se refiere al comportamiento de los roedores de desplazar el material de su cama, generalmente aserrín o viruta, con movimientos típicos alternos de empuje hacia adelante con sus patas delanteras (pisando o empujando) y movimientos de empuje con la cabeza dirigidos a fuentes localizadas de estimulación aversiva. Los objetos dañinos y nocivos pueden ser electrodos electrificados (Pinel y Treit, 1978).

Junto con la huida, el congelamiento y la lucha, el enterramiento defensivo constituye parte del repertorio conductual de reacciones defensivas incondicionadas específicas de la especie, que están disponibles de manera fácil e innata para los roedores. Por otra parte, la prueba de enterramiento defensivo ha mostrado poseer validez predictiva, pues la administración de los fármacos ansiolíticos que han mostrado su efectividad clínica suprimen de manera considerable la conducta de enterramiento en esta prueba conductual (De Boer y Koolhaas, 2003).

El procedimiento para llevar a cabo la prueba de enterramiento defensivo es sencillo y se ha mantenido constante desde la descripción de Pinel y Treit (1978). Ésta consiste en una caja de acrílico transparente con cuatro paredes que emule la caja hogar de la rata, con suficiente material en la cama de la que el animal pueda disponer

para enterrar. El estímulo aversivo debe ser un electrodo con una longitud de 6 a 7 cm que sobresalga de una de las paredes de la caja, a través de un pequeño hoyo de aproximadamente 2 cm de diámetro, que se encuentre electrificado mediante una caja de corriente constante.

Esta prueba conductual requiere de un período de tres ensayos de habituación del animal al ambiente experimental. Para ello, la rata es introducida en la caja de enterramiento defensivo sin el electrodo presente y se le permite una libre exploración durante un período de 10 minutos diariamente, este proceso se realiza durante tres días consecutivos previos al ensayo experimental.

El ensayo experimental se realiza en el día subsecuente al último ensayo de habituación y consiste en introducir a la rata en la caja de enterramiento defensivo, en esta ocasión con el electrodo electrificado presente y se le permite la exploración dentro de ésta, al tocar el electrodo con sus patas, nariz, boca o alguna otra parte de su cuerpo recibe una pequeña descarga eléctrica. En consecuencia a esta amenaza, la rata emitirá la conducta de enterramiento dirigida al electrodo, como respuesta a la ansiedad que le produce. La sesión experimental debe tener una duración de entre 10 y 15 min después del primer contacto con el electrodo y se cuantifica el tiempo que la rata emitió la conducta de enterramiento como índice de ansiedad.

En general pueden distinguirse cuatro categorías, que engloban los tipos de conductas que pueden observarse en la prueba del enterramiento defensivo (Tsuda y Tanaka, 1988; De Boer y Koolhaas, 2003).

- a. Deambulaci3n: cualquier actividad locomotora horizontal, que va desde un solo paso hasta moverse vigorosamente en la jaula.

- b. *Rearing*: levantamiento del cuerpo sobre las extremidades traseras en posición vertical, principalmente haciendo movimientos de olfateo con la nariz hacia arriba.
- c. Inmovilidad: agacharse, acostarse, sentarse o permanecer quieto con el cuerpo inmóvil.
- d. Enterramiento: sacudir y excavar el aserrín hacia y alrededor del electrodo con movimientos rápidos las patas delanteras y el hocico, en un intento por enterrarlo.

Las conductas observadas en esta prueba se encuentran relacionadas a un índice psicológico putativa (Tabla 3). Tradicionalmente, se puntúa el tiempo dedicado a la conducta de enterramiento dirigido al electrodo como comportamiento defensivo motivado por un estado de miedo/ansiedad en este paradigma, en un intento por ocultar o incapacitar el estímulo aversivo (Pinel y Treit, 1978; De Boer y Koolhaas, 2003). El tiempo que tarda el animal en responder (conducta de enterramiento) a situaciones potencialmente amenazantes (choque eléctrico), se conoce bajo el término de reactividad; mientras que el número de choques refiere a la aversión al estímulo amenazante, a mayor número de choques menor aversión al electrodo (De Freslon, 2014; De Boer y Koolhaas, 2003).

Adicionalmente, este modelo permite evaluar conductas de evitación pasiva ante una situación amenazante, como la inmovilidad, conducta que los roedores utilizan frente a estímulos amenazantes y depredadores, con el fin de no ser vistos para evitar ser dañados o capturados (Roelofs, 2017). Finalmente, la conducta “rearing” en ratas se caracteriza por apoyarse en sus patas traseras para posicionarse verticalmente y alcanzar un punto más alto, olfateando con movimientos laterales sobre el eje de su

cabeza, ésta conducta se ha tipificado para la evaluación de los riesgos y la búsqueda de rutas de escape de la situación amenazante (De Boer y Koolhaas, 2003).

**Tabla 3**

*Repertorio conductual e índice psicológico putativo observable en la prueba del enterramiento defensivo*

Parámetro conductual	Índice psicológico putativo
Enterramiento dirigido al electrodo (tiempo)	Ansiedad/ miedo/ evitación activa
Latencia choque-enterramiento (tiempo)	Reactividad
Número de choques (cantidad)	Aversividad al estímulo de la prueba
Inmovilidad (tiempo)	Evitación pasiva
Rearing (tiempo)	Exploración y evaluación de intentos de escape

## **CAPÍTULO IV. LA AMÍGDALA CEREBRAL**

Debido a que la ansiedad es un fenómeno sumamente complejo existen muchas áreas cerebrales encargadas de producirla, entre las cuales se destaca el papel primordial que juega la amígdala cerebral, como una de las áreas principales encargadas de la producción y modulación de la ansiedad (Pérez de la Mora, 2008).

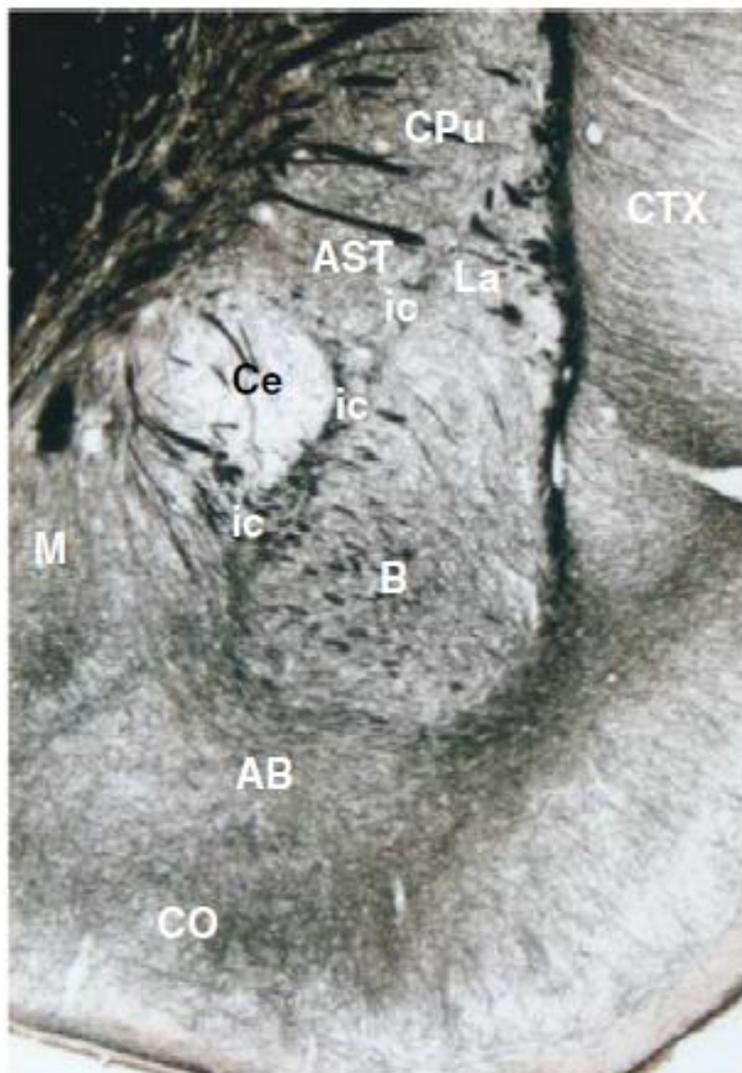
La amígdala apareció en una etapa temprana de la evolución del encéfalo y está implicada en respuestas que son de vital importancia para la supervivencia (Carlson, 2014). Esta estructura, tiene un origen primitivo y esencial en los seres vivos del reino animal, pues incluso las especies que no son mamíferos, como los reptiles, las aves y los peces, tienen una región cerebral similar a la amígdala con circuitos y funciones similares a la amígdala de los mamíferos (Lanuza, 1998; Janak, 2015; Jarvis, 2005).

Su nombre derivado del griego ἀμυγδαλή (amygdalē), significa “almendra” y fue reconocida como un área cerebral distinta a principios del siglo XIX. Se encuentra ubicada en el lóbulo temporal medial y, como la mayoría de las regiones del cerebro, no es una masa única, sino que está compuesta de distintas subáreas o núcleos (LeDoux, 2007; Davis y Whalen, 2001).

Esta estructura cerebral se encuentra dividida en 12 regiones, de las cuales destacan el núcleo medial amigdalino (MeA), el núcleo central (CeA), las islas intercaladas paracapsulares (IPC) y el complejo basolateral (BLA), como se puede observar en la Figura 1 (Pérez de la Mora, 2008; LeDoux, 2007; Janak, 2015; Carlson, 2014).

## Figura 1

*Tinción de fibras con plata en la región amigdalina*



*Nota.* Abreviaturas de las áreas de la amígdala y regiones aledañas: Ce: núcleo central (también abreviado CeA), AB: núcleo basal accesoria, B: núcleo basal, Ic: islas intercaladas (también abreviadas IPC), La: núcleo lateral, M: núcleo medial (MeA), CO: núcleo cortical. Áreas que no son parte de la amígdala: AS: área de transición amígdalo-estriatal, CPu: putamen caudado, CTX: corteza (modificado de LeDoux, 2007)

## **Complejo basolateral (BLA)**

En general, es bien aceptado que la información sensorial sobresaliente del entorno llega al complejo basolateral amigdalino desde el tálamo y la corteza cerebral, para después ser enviada al CeA donde se implementa un estímulo de saliencia de miedo adecuado; adicionalmente, el BLA también envía proyecciones al núcleo acumbens (NAc) y el núcleo cama de la estría terminal (BNST) (Pérez de la Mora, 2008; Janak, 2015).

El complejo basolateral se encuentra ampliamente innervado por las regiones corticales, especialmente la región medial y orbital de la corteza prefrontal (PFC), además de poseer conexiones directas con áreas de consolidación de la memoria como el hipocampo (HPC) (Janak, 2015).

De acuerdo con Orsini y Maren (2012), el BLA está compuesto en un 80% de neuronas piramidales glutamatérgicas, que forman la mayoría de las conexiones extrínsecas fuera de este núcleo; mientras que el 20% restante está conformado por interneuronas GABAérgicas que conforman la mayoría de los circuitos locales.

Finalmente, a este núcleo se le han atribuido principalmente funciones de plasticidad y memoria del miedo, por su conexión directa con la región CA1 ventral del hipocampo (Blair, 2001; Rodríguez 2004). El BLA tiene el papel de integrar y asociar la información de los estímulos aversivos condicionados e incondicionados proveniente de las áreas sensoriales (Orsini y Maren, 2012).

## **Núcleo medial amigdalino (MeA)**

Como su nombre lo indica, el MeA se encuentra en la porción medial de la amígdala, cercano al tracto óptico. Este núcleo puede dividirse en región posterior y anterior (Swanson y Petrovich, 1998).

La región anterior del MeA recibe proyecciones directas del bulbo olfatorio accesorio, que recibe y procesa información vomeronasal. Por su parte, la región posterior de este núcleo se encuentra directamente inervada por el bulbo olfatorio principal (Takahashi, 2014). Debido a estas conexiones, el MeA se ve ampliamente relacionada al procesamiento de estímulos olfatorios aversivos, además de diversos tipos de conductas agresivas y defensivas relacionadas a la respuesta sexual (Takahashi et al., 2005).

## **Islas intercaladas paracapsulares.**

Otra serie de estructuras importantes para la modulación amigdalina del miedo/ansiedad, son las llamadas islas intercaladas que consisten en un grupos de neuronas GABAérgicas que forman la isla principal intercalada (IM) que en la rata está ubicada ventralmente al CeA, y las islas intercaladas paracapsulares (IPC) que rodean el BLA (Palomares- Castillo, 2012).

Como consecuencia de la escasez de conexiones entre el BLA y el CeA, las IPC forman un vínculo entre ellas para proporcionar una interfaz inhibitoria que controla el tráfico de impulsos nerviosos entre ambos núcleos (Royer et al., 1999), contribuyendo así a modular la respuesta de salida de la amígdala.

Por otra parte, las IPC proporcionan una retroalimentación inhibitoria al BLA, que representa la principal estación de entrada de la amígdala (Marowsky et al., 2005), además de ser auxiliares en la modulación del fuerte freno inhibitorio proveniente de las neuronas corticales al BLA (Palomares-Castillo, 2012; Lang y Paré, 1998).

### **Núcleo central amigdalino (CeA).**

El núcleo central amigdalino (CeA) se encuentra en la región medial de la amígdala y está dividida en dos porciones, la región lateral (CeL) y la región medial (CeM) (Cassell, 1986; Janak, 2015). Este núcleo se encuentra en una posición estratégica para mediar múltiples aspectos del miedo y la ansiedad, ya que las neuronas provenientes del CeA se proyectan a diversos sitios involucrados en la mediación de la respuesta de ansiedad; incluidos el hipotálamo, el prosencéfalo basal y el tronco cerebral (Kalin, 2004; Davis, 1992).

Las neuronas ubicadas en el CeA son principalmente GABAérgicas que parecen estar involucradas en circuitos locales, a su vez la división CL proyecta hacia la CeM, siendo la región medial la que representa la principal salida de proyecciones de la amígdala con otras áreas (Kalin, 2004). Estas neuronas de proyección local entre el CL y el CM son de naturaleza inhibitoria; por tanto, la excitación de éstas conduce a la inhibición de la actividad de salida, mientras que su inhibición da lugar a un aumento de la actividad de salida (LeDoux, 2007).

Como se comentó anteriormente, la activación del CeA depende en parte de la comunicación recibida por el BLA. Una posibilidad es que la activación de las IPC por el BLA inhiben las proyecciones locales de la amígdala central, desinhibiendo así sus proyecciones de salida y dando lugar a la expresión de la respuesta

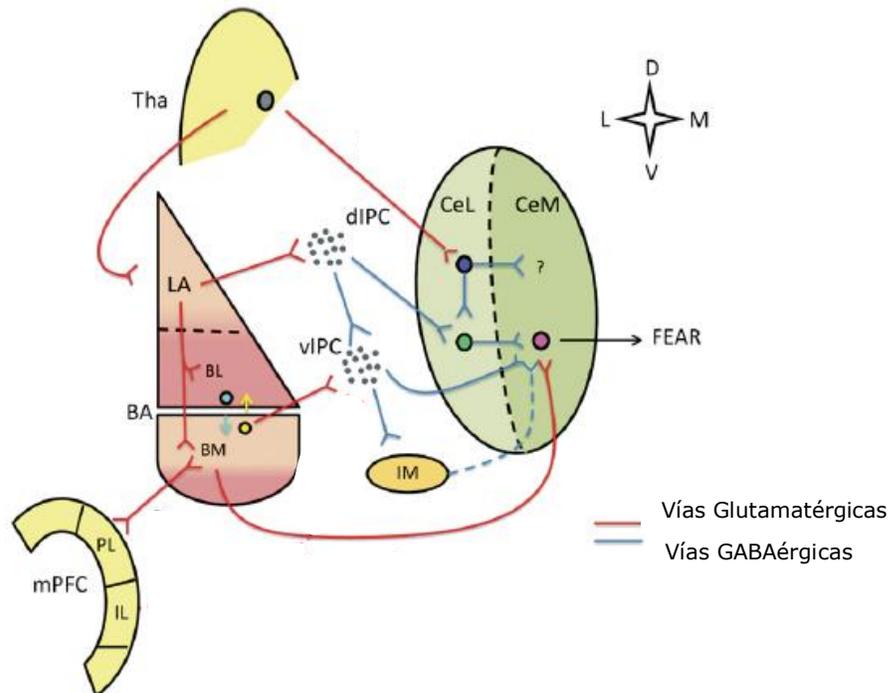
(Palomares-Castillo, 2012; LeDoux, 2007). Existen además proyecciones corticales que impactan directamente en este núcleo por medio de neuronas piramidales glutamatérgicas, además de proyecciones glutamatérgicas directas provenientes únicamente de la región lateral (La) del BLA (Palomares-Castillo, 2012; LeDoux, 2007; Janak, 2015).

En concordancia con lo anterior, este núcleo se encuentra ampliamente interconectado con los demás núcleos de la amígdala, y es a partir de éste del que se desprenden la mayor cantidad de conexiones de la amígdala con otras estructuras cerebrales para la producción de la respuesta de ansiedad e incluso el reforzamiento de la conducta alimentaria (Fadok, 2018; Davis, 1992).

La importancia de este núcleo como principal salida de información amigdalina de ha sido respaldada por amplios estudios en roedores, humanos y primates, que han demostrado las contribuciones funcionales del CeA en la mediación de diversas respuestas defensivas conductuales y fisiológicas, provocadas por la exposición a estímulos aversivos condicionados e incondicionados (Fadok, 2018; Janak, 2015; Kalin, 2004; Davis, 1992).

## Figura 2

### Comunicación en la amígdala cerebral



*Nota.* Representación esquemática del flujo de información dentro de la amígdala. Las vías GABAérgicas y glutamatergicas se representan en azul y rojo respectivamente. Aferencias glutamatergicas talámicas llegan a LA, donde su asociación dará como resultado la formación de plasticidad dependiente de NMDA. La información resultante de la plasticidad local llegará a las neuronas de salida de CeM a través de las células IPC mediales. Las islas de IPC dorsales (dIPC) se proyectarán a CeL inhibiendo las neuronas GABAérgicas locales y liberando de esta manera las neuronas de salida del CeM, produciendo la respuesta de ansiedad. Además, las dIPC pueden inhibir las neuronas del grupo ventral liberando así también neuronas de salida CeM. Alternativamente, el BA recibe entradas glutamatergicas provenientes de la corteza prefrontal medial (mPFC), activando las células del BA que tiene conexiones excitatorias directas con las células del CeM que también darán como resultado la producción de ansiedad. Finalmente, la información puede llegar al CeL a través de aferentes talámicos, para producir una respuesta similar (editado de Palomares-Castillo, 2012).

## **Neurotransmisores y receptores presentes en la amígdala cerebral.**

El flujo de información a través de los circuitos de la amígdala está modulado por una gran variedad de sistemas de neurotransmisores. Los neurotransmisores más abundantes en la amígdala cerebral son el ácido aminobutírico GABA (GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub>) y el glutamato (Castro-Sierra, 2005). Por otra parte, también existe la presencia de monoaminas noradrenalina, dopamina y serotonina en la amígdala influyen en cómo interactúan las neuronas excitadoras e inhibitoras. De este modo, la activación de la amígdala conduce a la liberación de estos neurotransmisores en todo el prosencéfalo e incluso dentro de la amígdala (Pérez de la Mora, 2007; LeDoux, 2007).

Las conexiones inhibitoras de tipo GABA<sub>A</sub> se encuentran entre la amígdala, la corteza cerebral y el tálamo medial dorsal. Mientras que las conexiones GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub> funcionan como excitadoras entre la amígdala y el tálamo ventral dorsal y el área CA2 del hipocampo (Castro-Sierra, 2005). Por otra parte, la comunicación interna de la amígdala se vale principalmente de conexiones GABAérgicas y glutamatérgicas para comunicar estímulos excitatorias e inhibitorias dentro de sus núcleos (Palomares-Castillo, 2012).

El glutamato (GLU), funciona como el principal neurotransmisor excitador del cerebro y también en la amígdala cerebral, ejerciendo su función a través de receptores ionotrópicos de NMDA, AMPA y receptores metabotrópicos. Las conexiones glutamatérgicas de la amígdala con otras estructuras cerebrales se encuentra a través del núcleo central de la amígdala (CeA) con el hipotálamo y el sistema nervioso periférico (SNP). Y entre el núcleo lateral (La) y el hipocampo, para el condicionamiento al miedo (Castro-Sierra, 2005).

La dopamina juega un papel importante en el miedo y la ansiedad modulando un freno cortical que la corteza prefrontal medial ejerce sobre la salida ansiogénica de la amígdala y tiene una influencia importante en el tráfico de impulsos entre los núcleos basolateral (BLA) y central (CeA) de la amígdala. Los aferentes de dopamina del área tegmental ventral inervan preferentemente las islas intercaladas paracapsulares y principales rostralaterales, así como el núcleo central lateral de la amígdala, activando poblaciones no superpuestas de receptores de dopamina D1 y D2 ubicados en estas estructuras (Pérez de la Mora, 2010).

La 5-hidroxi-triptamina (5-HT), también conocida como serotonina, se encuentra activa durante la formación y recuperación de la memoria del miedo, y la actividad de estas proyecciones facilita el miedo, en proyecciones provenientes del núcleo dorsal de raffé y el complejo basolateral (BLA) (Sengupta y Holmes, 2019).

Por otra parte, el locus coeruleus posee proyecciones directas a la amígdala, específicamente al núcleo central (CeA), en el cual ejerce una función excitatoria que favorece la respuesta de ansiedad producida por este núcleo, a través de la liberación de noradrenalina. Además existen vías noradrenérgicas entre el BLA y el CeA hacia el hipocampo, para favorecer la memoria aversiva, así como vías noradrenérgicas entre el CeA y el núcleo acumbens (Mineur, 2018; Castro-Sierra, 2005).

Los receptores de los distintos neurotransmisores se distribuyen de forma diferencial en los distintos núcleos de la amígdala, además de receptores de diversas hormonas, incluidas las hormonas glucocorticoides y estrógeno. También se encuentran numerosos receptores de péptidos en la amígdala, incluidos los receptores de péptidos opioides, oxitocina, vasopresina, factor de liberación de corticotropina y neuropéptido Y (LeDoux, 2007).

**Tabla 4***Comunicación de neurotransmisores en la amígdala y otras estructuras.*

---

Neurotransmisor	Origen	Destino	Función
GABA a	BLA	PFC	Inhibidor
GABA a	BLA/CeA	Tálamo dorsal	Inhibidor
GABA b	BLA	CeA	Inhibidor
GABA b	BLA	Hipocampo	Excitador
GABA g	LA	Tálamo ventral	Excitador
GLU	BLA/CeA	Hipocampo	Excitador
DA	BLA/CeA	PFC	Excitador
DA	BLA	Núcleo Acumbens	Inhibidor
5-HT	BLA	Hipotálamo	Excitador
NA	BLA	Núcleo Acumbens	Excitador
NA	BLA/CeA	Hipocampo	Excitador
NA	CeA	Hipotálamo	Excitador
NA	LC	CeA	Excitador
Corticoides	BLA/CeA	Hipocampo	Excitador

---

Un desafío importante en la investigación es comprender cómo interactúan estos diversos sistemas químicos para establecer el tono general de amígdala. Por ejemplo, se sabe que la liberación de serotonina inhibe la actividad celular en el núcleo lateral; sin embargo, esto se logra mediante la excitación de la serotonina en las células GABAérgicas que inhiben las neuronas de proyección. Además, la hormona glucocorticoide corticosterona es necesaria para estos efectos de la serotonina (LeDoux, 2007; Kalin, 2004).

Es probable que existan muchas interacciones posibles entre los diversos sistemas químicos de la amígdala, por lo cual aún no queda completamente esclarecido el papel de los diversos neurotransmisores, y por lo tanto sus receptores, en la modulación y producción amigdalina de la ansiedad. En este punto radica la importancia de la investigación centrada en conocer el papel que juegan los diversos neurotransmisores dentro de la amígdala cerebral.

## **CAPÍTULO V. ADRENALINA Y NORADRENALINA.**

La ansiedad conlleva una serie de reacciones fisiológicas que impactan directamente a todo el organismo. Muchas de estas reacciones son generadas a partir de la liberación de adrenalina y noradrenalina (epinefrina o norepinefrina), tanto en el sistema nervioso central (SNC), como en el sistema nervioso periférico (SNP) principalmente en el sistema nervioso autónomo (SNA). Dada la importancia que estos neurotransmisores y hormonas poseen en la génesis y modulación de la ansiedad, este capítulo tiene el objetivo de retratar las vías y los procesos que la adrenalina y noradrenalina ejercen en la producción de los ya conocidos síntomas de la ansiedad.

### **Etimología**

El término adrenalina proviene del latín “ad-renes” que significa “junto al riñón”, haciendo referencia a las glándulas suprarrenales, que representan uno de los principales sitios de producción de esta hormona/neurotransmisor, en el organismo. Por otra parte, el término epinefrina, una forma alterna de llamar a la adrenalina, proviene de las raíces griegas “epi” y “nephros” cuyo significado literal es “encima del riñón”; ambos términos refieren a la misma sustancia, por lo cual en el argot médico y la investigación son usados indistintamente (Askew y Smith-Stoner, 2001).

### **Síntesis y producción**

Tanto la adrenalina como la noradrenalina son catecolaminas monoaminérgicas derivadas del aminoácido fenilalanina, cuya síntesis sigue la subsecuente cadena de eventos (Figura 3; De Leeuw, y Kroon, 2018; Vargas, 2000).

1. En el axoplasma, el aminoácido fenilalanina por acción de la fenilalanina hidroxilasa y el cofactor p-teridina es convertido en tirosina.
2. La tirosina, por acción de la tirosina hidroxilasa y la presencia de un ion ferroso de oxígeno más el cofactor tetrahidropte-ridina, es trasformada en DOPA.
3. La DOPA sufre la pérdida de un átomo de carbono y por acción de la DOPA-descarboxilasa es trasformada en dopamina.
4. La dopamina, por acción de la dopamina beta-hidroxilasa en presencia de cobre, oxígeno y fosfato ascórbico es convertida en noradrenalina.
5. En las células de la médula suprarrenal, la enzima feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT) convierte a la noradrenalina en adrenalina.
6. Finalmente, tanto la adrenalina como la noradrenalina son vesiculadas y transportas a la membrana plasmática y liberarse por exocitosis tan pronto como un potencial de acción provoque un influjo de calcio en la célula.

### **Metabolismo y regulación de la noradrenalina.**

Cuando se libera la noradrenalina de las terminales nerviosas, su destino y efecto están determinados por una compleja serie de mecanismos. Primero, solo una parte del neurotransmisor activa los adrenoceptores en la membrana de la célula postsináptica, ya que la noradrenalina liberada sinápticamente está sujeta a una recaptación activa y metabolismo en la terminal nerviosa. Para este fin, el

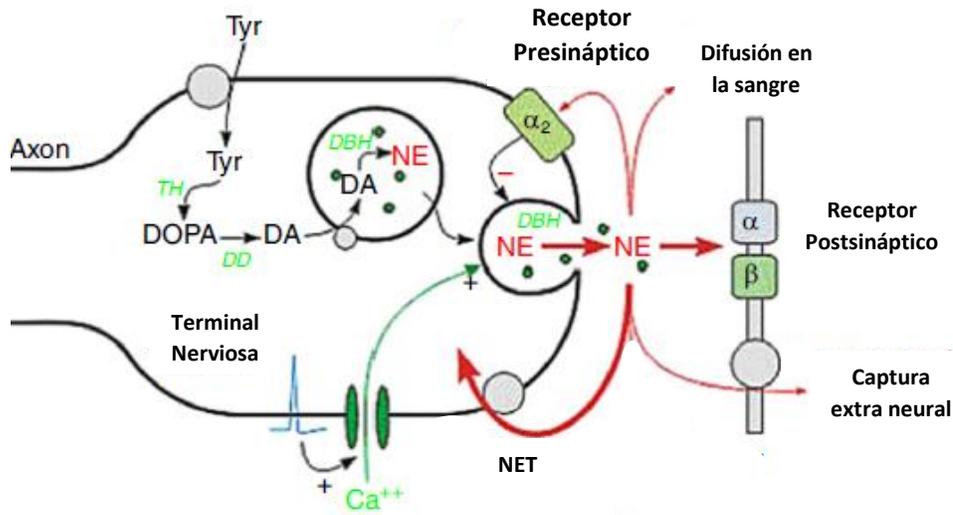
metabolismo de la noradrenalina sigue tres vías (Figura 3; De Leeuw, y Kroon, 2018; Vargas, 2000).

1. La noradrenalina liberada sinápticamente es recaptada por el transportador de noradrenalina (NET) en la terminal nerviosa (captación 1). Este proceso puede bloquearse por la cocaína y por una variedad de fármacos antidepresivos.
2. La noradrenalina que penetra en la célula diana (captación 2) es rápidamente inactivada por la monoamina oxidasa (MAO) y la catecol-O-metiltransferasa (COMT). Una parte es convertida en ácido 3-hidroxi-4-metoximandélico y otra en 3-hidroxi 4-metoxi-fenilglicol (HMPG), el metabolito más importante de la noradrenalina.
3. Un tercer mecanismo que es importante señalar es el potencial de la noradrenalina para estimular a los receptores alfa-2 presinápticos que inhiben la liberación exocitótica del neurotransmisor.

Finalmente, Macarthur (2011) descubrió que el neuropéptido Y (NPY) y el adenosín trifosfato (ATP) se localizan conjuntamente con la noradrenalina en las vesículas de almacenamiento y se liberan al mismo tiempo que el neurotransmisor. Ambas sustancias son capaces de activar los receptores postsinápticos, conduciendo a la amplificación de los efectos de la NE. Además, pueden inhibir su propia liberación y la de noradrenalina mediante la activación de receptores presinápticos en la terminal nerviosa.

**Figura 3**

*Diagrama de liberación y regulación de noradrenalina*



*Nota.* La tirosina (Tyr), por acción de la tirosina hidroxilasa (TH) es transformada en DOPA y por acción de la DOPA-decarboxilasa (DD) es transformada en dopamina (DA), ésta por acción de la dopamina beta-hidroxilasa (DBH) es convertida en noradrenalina (NE) que, al ser estimulada la célula por un influjo de calcio, es liberada por exocitosis y se une a los receptores postsinápticos noradrenérgicos. Posteriormente la noradrenalina activa el receptor alfa 2 presináptico que inhibe la liberación exocitótica del neurotransmisor, o es recapturada por el NET y metabolizada (modificado de De Leeuw, y Kroon, 2018).

### **Diferencias y similitudes entre la adrenalina y la noradrenalina**

La noradrenalina y la adrenalina son dos compuestos similares químicamente, su principal diferencia es que en la adrenalina un hidrógeno del grupo amino se cambia por un grupo metilo. Ambas sustancias son producidas en la médula adrenal ubicada en las glándulas suprarrenales; sin embargo, la enzima PNMT es un precursor de vital importancia para la síntesis de adrenalina y esta enzima sólo se encuentra

presente en el citosol de las células cromafines de la médula adrenal; por esta razón, la adrenalina sólo puede ser sintetizada en esta región, mientras que la noradrenalina puede ser sintetizada en distintas regiones del SNC y en neuronas posganglionares del sistema nervioso simpático (De Leeuw, y Kroon, 2018).

Otra diferencia a resaltar entre ambos compuestos es la proporción en que son producidas en distintas áreas del organismo. En las glándulas suprarrenales la proporción de producción es 80% adrenalina y 20% noradrenalina, denominando a la respuesta generada en esta región como “respuesta adrenérgica”. Por otra parte, en el SNC, la proporción de ambos compuestos es inversamente proporcional, siendo un 80% noradrenalina y 20% adrenalina, de ahí que se denominen neuronas y sistemas noradrenérgicos (Ciccarelli et al., 2017; De Leeuw, y Kroon, 2018).

Tanto la adrenalina como la noradrenalina ejercen su acción mediante los mismos tipos de receptores, los llamados receptores adrenérgicos (ARs), produciendo exactamente los mismos efectos al unirse a ellos; sin embargo, el lugar en el que ejercen su acción determina el papel funcional que se les otorga, ya sea como hormona o neurotransmisor. Cuando estos compuestos son liberados en el torrente sanguíneo y ejerce su acción a distancia, su papel será el de hormona; por otra parte, si su liberación es en el espacio sináptico de dos neuronas contiguas, su función será la de un neurotransmisor (Schmidt y Weinshenker, 2014; Ciccarelli et al., 2017).

### **Eje HPA y SAM.**

Las amenazas ambientales se perciben y transmiten a través de vías sensoriales a diferentes estructuras en el SNC, que subsecuentemente activan al eje simpático-adrenomedular (SAM) o simpático autónomo, y al eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPA). El núcleo central de la amígdala (CeA) proyecta al núcleo lateral

y al paraventricular (PVN) del hipotálamo, que activan al eje SAM, y al eje HPA (Tafet y Nemeroff, 2020).

El SAM es una región de la división simpática del sistema nervioso autónomo, es responsable de la respuesta más rápida y actúa a través de la liberación de adrenalina en la médula suprarrenal, que promueve la activación de la respuesta de lucha/huida; en cambio, el eje HPA, se encarga de la producción de glucocorticoides (De Leeuw, y Kroon, 2018).

Las neuronas preganglionares simpáticas poseen axones que forman sinapsis colinérgicas con las células cromafines de la médula suprarrenal, cuya activación desemboca en la liberación de catecolaminas, principalmente adrenalina y noradrenalina en menor medida. Estas hormonas son liberadas en el torrente sanguíneo que se unen a adrenoreceptores presentes en múltiples órganos para favorecer la respuesta de lucha/huida (Romero et al., 2019).

El eje HPA se activa minutos después del pico de adrenalina y representa una cascada de eventos que comienzan con la secreción del factor liberador de corticotropina (CRF), desde el núcleo paraventricular del hipotálamo hacia la circulación porta, lo que estimula la síntesis y liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en la glándula pituitaria. Finalmente, la ACTH se libera al torrente sanguíneo para llegar a la corteza suprarrenal, donde estimula la biosíntesis y liberación de glucocorticoides, principalmente cortisol (Jurueña et al., 2020; Tafet y Nemeroff, 2020).

Estas hormonas esteroides ejercen sus efectos uniéndose a receptores de mineralocorticoides (MR o tipo I) y receptores de glucocorticoides (GR o tipo II), que constituyen un complejo hormona-receptor (Romero et al., 2019; Tafet y Nemeroff, 2020). Los glucocorticoides ejercen algunas funciones, incluida la

gluconeogénesis, efectos catabólicos y antianabólicos, inflamación leve, resistencia a la insulina y un estado protrombótico. El papel clave de los glucocorticoides consiste en mantener la homeostasis en respuesta al estrés (Juruena et al., 2020).

### **Sistemas adrenérgicos en el SNC**

La acción de los receptores adrenérgicos en el SNC está regulado principalmente por la noradrenalina, debido a que los niveles de adrenalina en el cerebro son sumamente bajos (Mefford, 1988). Los sistemas noradrenérgicos de relevancia para el SNC, son regulados principalmente por el grupo de neuronas sintetizadoras de noradrenalina A6, también conocidas como locus coeruleus. Tanto la adrenalina como la noradrenalina no cruzan la barrera hematoencefálica, por lo cual las acciones periféricas de estas catecolaminas son paralelas con la noradrenalina producida en el cerebro por el locus coeruleus (Romero et al., 2019).

El locus coeruleus es una estructura situada en el piso del cuarto ventrículo en el área tegmental lateral, que recibe una innervación directa de las neuronas medulares productoras de adrenalina y noradrenalina. A través de esta estructura se envían proyecciones noradrenérgicas que generan una "red en todo el cerebro" de modulación y excitación mediada por noradrenalina, en la amígdala, neocorteza, hipocampo, tálamo, cerebelo y la médula espinal (Benarroch, 2018; Boyer, 2000; Vargas, 2000).

Las principales vías noradrenérgicas provenientes del locus coeruleus se dirigen a distintas áreas cerebrales para contribuir mediante sus proyecciones noradrenérgicas en distintas funciones: En la corteza frontal, la noradrenalina tiene una función reguladora del estado de ánimo; en la PFC interviene en la atención y la

concentración; en áreas límbicas, como la amígdala cerebral, interviene en procesos relacionados al estado de ánimo, como la ansiedad y el miedo; mientras que en el cerebelo interviene en los movimientos uniformes y coordinados del cuerpo (Benarroch, 2018).

## **CAPÍTULO VI. RECEPTORES ADRENÉRGICOS**

La adrenalina y la noradrenalina ejercen su acción mediante la activación de receptores llamados adrenérgicos (ARs); también son denominados indistintamente como receptores noradrenérgicos cuando la noradrenalina es el ligando, que se encuentran ampliamente distribuidos en el SNC (Brunton, 2018). Cabe señalar a este respecto, que, como se mencionó anteriormente, la acción de los receptores adrenérgicos en el SNC está regulado principalmente por la noradrenalina, debido a que los niveles de adrenalina en el cerebro son sumamente bajos (Mefford, 1988).

Los receptores adrenérgicos pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR), que son receptores de membrana que activan las llamadas proteínas G heterotriméricas, después de la unión de la adrenalina, noradrenalina o alguno de sus agonistas. Estos receptores típicamente estimulan (a través de la proteína Gs) o inhiben (a través de la proteína Gi) la enzima adenilato ciclasa, o activan (a través de la proteína Gq) la fosfolipasa C (PLC) (Ciccarelli, 2017; Schmidt y Weinshenker, 2014).

Se han identificado principalmente dos clases de ARs, los adrenoreceptores alfa ( $\alpha$ AR) y los adrenoreceptores beta ( $\beta$ AR); que a su vez se encuentran divididos en alfa 1 y alfa 2 para los  $\alpha$ AR, y beta 1, beta 2 y beta 3 para los  $\beta$ AR (Tabla 5).

Teniendo los receptores alfa una selectividad ligeramente mayor por la noradrenalina y los beta por la adrenalina, de ahí que se les considere un papel de mayor importancia a los alfa en el SNC y a los beta en regiones periféricas como el sistema cardiovascular (Vargas, 2000; Brunton 2018).

## **Receptores beta**

En la familia de los receptores beta existen tres subtipos de receptores: beta 1, que se encuentra en sus niveles más altos en el corazón; el receptor beta 2, que se distribuye extensamente por todo el cuerpo; y beta 3, que se expresa principalmente en el tejido adiposo blanco y marrón (Schmidt y Weinshenker, 2014).

Los tres subtipos de receptores beta (beta 1, beta 2 y beta 3) se unen a proteínas Gs y activan el adenilato ciclasa. La estimulación de los receptores beta adrenérgicos conduce a la acumulación de AMPc, la activación de la proteína cinasa A y la función de numerosas proteínas celulares como resultado de su fosforilación (Brunton, 2008). En ciertas condiciones, el receptor beta 2 también puede ubicarse presinápticamente y acoplarse a proteína Gi, para disminuir la actividad de AMPc; además, la señalización de beta 2 y beta 3 también puede ocurrir a través de mecanismos independientes de la proteína G (Ciccarelli, 2017; Baillie et al., 2003).

## **Receptores alfa 1**

La subfamilia alfa 1 son receptores post-sinápticos acoplados a proteína Gq, que se encuentran divididos en tres subtipos homólogos, alfa 1A, alfa 1B y alfa 1D. Su activación estimula la actividad de la fosfolipasa C para dividir el 4,5-bifosfato del fosfatidilinositol e incrementa el inositol trifosfato y el diacilglicerol, lo que provoca un aumento del calcio intracelular y la activación de la proteína cinasa C, que

conduce a la transmisión de potenciales de acción mediadas por noradrenalina en el cerebro. Son también mediadores importantes de las respuestas del sistema nervioso simpático, participando en la constricción del músculo liso arteriolar y la contracción cardíaca (Graham et al., 1996; Schmidt y Weinshenker, 2014; Ciccarelli, 2017).

## **Receptores alfa 2**

La subfamilia alfa 2 acoplada a proteína  $G_i$  comprende tres subtipos: alfa 2A, alfa 2B y alfa 2C. Algunas especies distintas de los humanos también expresan un cuarto tipo alfa 2D (Ruuskanen, 2005). La activación de este receptor, a nivel presináptico, promueve que la proteína  $G_i$  inactive el adenilato ciclasa, acción que conlleva a la disminución del segundo mensajero intracelular AMPc que resulta en la apertura de los canales de  $K^+$ , dando como resultado la hiperpolarización de la membrana (véase Figura 3; Schmidt y Weinshenker, 2014; Brunton, 2018).

Los receptores alfa 2A y alfa 2C desempeñan un papel principal en la inhibición de la liberación de noradrenalina a partir de las terminaciones nerviosas simpáticas y la supresión del flujo simpático del cerebro, lo que conduce a la hipotensión (Kable et al., 2000).

Así, los principales efectos biológicos de los receptores alfa 2 pueden ser la agregación plaquetaria, la regulación del flujo de salida simpático del SNC, la inhibición de noradrenalina desde dentro de las sinapsis nerviosas simpáticas, la secreción de insulina y la lipólisis (Gavras y Gavras, 2001; Brunton, 2018).

Además, en el SNC, los receptores alfa 2A, median los efectos antinociceptivos, la sedación, la hipotermia, la hipotensión y las acciones conductuales de los agonistas alfa 2 (Lakhlani et al., 1997); por otra parte, existen receptores alfa 2C presentes en

el cuerpo estriado, el hipocampo ventral y dorsal, en donde participan en la modulación de la neurotransmisión de dopamina y diversas respuestas conductuales, también inhibe la liberación de catecolaminas de la medula suprarrenal y modula la neurotransmisión de DA en el cerebro (Brunton, 2018).

Finalmente, existen registros de receptores alfa 2 post-sinápticos presentes tanto en regiones periféricas como en muchos tipos de neuronas en el cerebro. En los tejidos periféricos, los receptores post-sinápticos alfa 2 se encuentran en células vasculares y otras células del músculo liso donde median la contracción, además de estar presentes en adipocitos y diversas células epiteliales secretoras intestinales, renales y endocrinas; su papel en el sistema nervioso central no se encuentra esclarecido, sin embargo, se cree que participa en procesos de la homeostasis y mantenimiento de la neurona (Jie et al., 1984; Brunton, 2018; Schmidt y Weinshenker, 2014).

**Tabla 5.***Receptores adrenérgicos / noradrenérgicos.*

---

Receptor	Subtipos	Proteína G acoplada	Ubicación	Acción principal
Alfa 1	a, b y d	Gq	Post-sináptica	Aumento del calcio intracelular, conducción del potencial de acción.
Alfa 2	a, b, c y d	Gi	Pre-sináptica	Inhibición de la liberación de noradrenalina
Beta 1		Gs	Post-sináptica	Estimulación cardiaca selectiva
Beta 2		Gs y Gi	Pre-sináptica y Post-sináptica	Contracción de células musculares, vasculares y cardiacas.
Beta 3		Gs	Post-sináptica	Segregación de tejido adiposo blanco y marrón

---

*Nota.* La tabla muestra a las principales características de los receptores adrenérgicos: la proteína G a la que se encuentran acoplados, su ubicación principal en el espacio sináptico (pre o post sináptico) y la principal función que se les ha atribuido en la literatura.

## **Participación de los receptores alfa 2 en la ansiedad**

Los receptores alfa 2 noradrenérgicos, dada su función regulatoria sobre el funcionamiento noradrenérgico del SNC, se han visto, en diversos estudios, involucrados en la modulación de la ansiedad.

Así, la clonidina, un agonista del receptor noradrenérgico alfa 2a, se ha considerado que, al inhibir la liberación de noradrenalina en el cerebro, posee propiedades ansiolíticas. En congruencia con lo anterior, se ha encontrado que al ser administrada en la corteza prefrontal, se producen efectos ansiolíticos tanto en la prueba conductual del laberinto elevado en forma de signo “+” como en la prueba del campo abierto (Wu, 2019).

Bashiri (2019), mostró adicionalmente que la infusión de clonidina directamente dentro del complejo basolateral de la amígdala cerebral fue capaz de revertir los efectos ansiogénicos de la nicotina en las ratas.

Adicionalmente, en ensayos clínicos en humanos se mostró que la clonidina fue capaz de generar efectos ansiolíticos similares a los encontrados en animales de laboratorio. Así, Ye y colaboradores (2018), mostraron que la clonidina al ser aplicada de manera transdérmica, fue capaz de generar una reducción significativa de los síntomas de ansiedad y depresión que se observan en pacientes con diagnóstico de ansiedad y trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), demostrando ser un tratamiento alternativo potencial para pacientes refractarios a los tratamientos farmacológicos tradicionales.

Por otra parte, la yohimbina, un antagonista selectivo del receptor alfa 2 adrenérgico que aumenta la activación de las células noradrenérgicas en el locus coeruleus

(Aghajanian y Vander Maelen, 1982) y la liberación de NA en áreas terminales como la amígdala (Khoshbouei et al., 2002), cuando es infundida en el núcleo basolateral de la amígdala causa, en congruencia con el papel modulador de los receptores alfa-2 en la ansiedad, efectos ansiogénicos.

Adicionalmente, los efectos ansiogénicos de la yohimbina han sido probados conductualmente en el laberinto elevado en forma de signo “+”, mostrando que a dosis de 5 mg/Kg intraperitonealmente, genera una disminución significativa de la exploración de los brazos abiertos de dicho laberinto, en comparación con lo que se observa en el grupo control (Yeung et al., 2013).

Adicionalmente, se ha demostrado que la yohimbina está relacionada con la impulsividad y que aumenta los niveles basales de cortisol. De acuerdo con esto, Mahoney (2016) reportó que la administración de yohimbina intraperitoneal a dosis de 1.25, 2.5 y 5 mg/Kg aumenta la conducta de impulsividad en ratas en la tarea de inhibición de la respuesta.

Por todo lo anterior, dicho antagonista ha demostrado ser un eficaz potenciador de la acción de la noradrenalina, por lo cual se ha utilizado en la investigación como un agente farmacológico inductor de ansiedad, tanto en humanos (Holmberg y Gershon, 1961; Bremner et al., 1996b) como animales de laboratorio (Lang and Gershon, 1963; Bremner et al., 1996a).

### **Estudio de los receptores alfa 2 presinápticos.**

A través de estudios con la neurotoxina N-(2-cloroetil)-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP4), se ha estudiado el papel de los receptores alfa 2 presinápticos en diversos tópicos de estudio, a dosis de 50 mg/kg generalmente causa un efecto pronunciado

en la depleción de las terminales nerviosas del locus coeruleus en el cerebro (Ross y Stenforde, 2015; Pietro 2001; Hausser 2017). Este compuesto es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, entrando a las neuronas noradrenérgicas a través del transportador de noradrenalina (NAT), produciendo múltiples reacciones originadas por un anillo de aziridinio en las terminales de las neuronas noradrenérgicas, y a través de reacciones desconocidas con múltiples compuestos vitales de la célula destruye las terminales (Ross y Stenforde, 2015).

Esta neurotoxina es capaz de generar una reducción en los niveles de noradrenalina en el hipocampo, corteza parietal e hipotálamo (Sanders, 2016; Prieto, 2001), además de probar ser en un compuesto eficaz para el estudio de fenómenos conductuales como el aprendizaje y memoria (Hauser, 2012; Riekkinen, 1992; Choudhary, 2018), epilepsia (Ćulić, 1995), atención (Hauser, 2017) y alcoholismo (Daoust, 1990); sin embargo, no existe información concluyente de la eficacia de esta neurotoxina en la depleción de las terminales noradrenérgicas en la amígdala cerebral y su impacto en el estudio de la ansiedad.

Es bien aceptado que el efecto conductual en la ansiedad producido por los receptores alfa 2 noradrenérgicos está mediado a través de la modulación de noradrenalina en la presinápsis de las neuronas noradrenérgicas; sin embargo, esta aseveración ha reducido la cantidad de investigaciones que buscan comprobar la veracidad de este supuesto. En respuesta a esta controversia se presentan los hallazgos de Mineur (2018), quien demostró que la reducción de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, mediante transfección viral en los cuerpos celulares del complejo basolateral amigdalino, previenen los efectos del agonista de los receptores alfa 2, guanfacina. Proponiendo la participación de receptores alfa 2 postsinápticos en la modulación de la ansiedad, además de los presinápticos.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Farmacológicamente, los trastornos de ansiedad son tratados comúnmente con benzodiazepinas, antidepresivos tricíclicos e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, siendo estos últimos los que han probado ser uno de los tratamientos más eficaces y más utilizados a lo largo de los últimos años. Sin embargo, en la población adolescente, el tratamiento farmacológico suele reducirse al uso de la fluoxetina, sin que se eximan los posibles efectos adversos, tales como la ideación o conducta suicida (OMS, 2020).

Debido tanto a la creciente incidencia de casos en trastornos de ansiedad, como de las pocas opciones farmacológicas y los comunes efectos adversos de los tratamientos actuales, cada vez es más necesario conocer con mayor exactitud el sustrato biológico que subyace a la ansiedad y los sistemas implicados en ella, para poder así generar más y mejores opciones para el tratamiento patológico de la ansiedad.

Como se describió anteriormente, la amígdala cerebral es una estructura ampliamente relacionada con la modulación de la ansiedad, y de ésta, el núcleo central de la amígdala (CeA) constituye su salida (out put) durante la respuesta de ansiedad. Debido a esto, el funcionamiento de dicho núcleo es de suma importancia para el estudio de los mecanismos desencadenantes de la ansiedad.

Por otro lado, aunque este núcleo se encuentra fuertemente inervado por fibras que provienen del locus coeruleus y posee una alta densidad de receptores alfa 2 adrenérgicos, la mayoría de las investigaciones que buscan conocer el papel del sistema noradrenérgico y en particular el de estos receptores en el SNC, se han

realizado en estructuras tales como la corteza prelímbica, el locus coeruleus, la corteza prefrontal medial (mPFC) o el hipocampo, faltando información sólida para poder esclarecer el papel de los receptores alfa 2 noradrenérgicos del núcleo central de la amígdala en la modulación de la ansiedad.

Por otra parte, aunque el efecto ansiolítico de la clonidina se ha reportado en diversos estudios, no todos ellos se han acompañado de experimentos que les hayan dado una validez farmacológica fehaciente, tales como la demostración de que dichos efectos conductuales puedan ser prevenidos por la administración previa de un antagonista selectivo para los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos.

Adicionalmente, el efecto ansiolítico de los receptores alfa 2 ha sido atribuido en múltiples estudios a la acción presináptica de estos receptores, a pesar de que en la mayoría de éstos no se ha comprobado tal supuesto. Dados los hallazgos encontrados en otros estudios (Mineur, 2018), que revelan un posible efecto ansiolítico de los receptores alfa 2 post sinápticos, se vuelve necesario generar más evidencia que soporte el papel de estos receptores según su distribución, presináptica y post sinápticamente.

Por otra parte, los estudios realizados en este paradigma de investigación han sido mayoritariamente ejecutados en la prueba conductual del laberinto elevado en forma de signo “+”, la caja luz-oscuridad y el campo abierto; sin embargo, dado que cada prueba modula distintos aspectos de la ansiedad, este estudio se llevará a cabo utilizando la prueba del Enterramiento Defensivo, una prueba de ansiedad validada y estudiada en diversos estudios de ansiedad, y que ha demostrado ser sensible a cambios inducidos por diversas condiciones sobre los niveles de esta respuesta (De Boer y Koolhaas, 2003).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General.**

Conocer el papel que los receptores alfa 2 noradrenérgicos, distribuidos presinápticamente en el núcleo central de la amígdala cerebral, juegan en la modulación de la conducta de ansiedad.

### **Objetivos Específicos.**

- Evaluar los efectos conductuales producidos por la administración de clonidina en el núcleo central de la amígdala cerebral, un potente agonista de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, en la prueba del enterramiento defensivo.
- Confirmar que los efectos producidos por la clonidina en el núcleo central de la amígdala son mediados específicamente a través de los receptores alfa 2, mediante la administración simultánea del antagonista selectivo yohimbina.
- Comprobar si los efectos conductuales generados a partir de la manipulación farmacológica de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, son mediados a través de los receptores presinápticos; a través de la depleción de receptores alfa 2 presinápticos con la neurotoxina DSP4.

## **Preguntas de investigación.**

¿La acción del agonista selectivo a los receptores alfa 2 noradrenérgicos, clonidina, en el núcleo central de la amígdala cerebral generará efectos ansiolíticos en la conducta, que serán prevenidos con la administración del antagonista selectivo Yohimbina?

¿Los efectos ansiolíticos de los receptores alfa 2 noradrenérgicos están mediados por los receptores presinápticos?

## **HIPÓTESIS**

- La administración intra-CeA de clonidina generará efectos ansiolíticos en la prueba del enterramiento defensivo.
- Los efectos conductuales generados en la prueba del enterramiento defensivo, por la administración intra-CeA de clonidina, serán prevenidos por la administración intraperitoneal del antagonista yohimbina.
- La depleción de receptores alfa 2 presinápticos con la neurotoxina DSP4 impedirá la acción ansiolítica de la clonidina.

## **MÉTODO**

### **Sujetos**

Se emplearon un total de 54 ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 250g +/- 10g: 14 para el experimento 1, 20 para el experimento 2 y 20 para el experimento 3. Los animales fueron obtenidos del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

### **Escenario**

Los experimentos se realizaron en el laboratorio AL204 de la División de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, usando para ello un cuarto especializado para el registro conductual.

La habitación de registro se mantuvo aislada del ruido exterior y bajo condiciones ambientales de temperatura controlada (20 a 25°C), utilizando un ciclo luz-oscuridad de 12:12 horas, presentando la fase de luz un horario de las 7:00 a las 19:00 hrs. Para el registro conductual se utilizó un sistema de videograbación consistente en una cámara de video de alta definición, un foco de luz roja con una emisión de 2.3 luxes y una computadora de registro.

### **Diseño de investigación.**

Se utilizó un diseño experimental puro con post prueba únicamente y grupo control, con alcance de investigación explicativo.

## **Pruebas conductuales**

### **Enterramiento defensivo**

La prueba conductual utilizada para evaluar la conducta de ansiedad fue la denominada enterramiento defensivo, que aprovecha la tendencia natural de las ratas a enterrar objetos que les resulten aversivos. Como se describió en el capítulo III, esta prueba tiene como parámetros el tiempo total de enterramiento como índice de ansiedad. La conducta de enterramiento se considera aquella en la que el animal arroja el aserrín hacía el electrodo con sus patas delanteras en un intento por enterrarlo.

Para la realización de la prueba se utilizó una caja de acrílico transparente (27×14×23 cm) provista de una cama de aserrín de 5 cm de altura. La caja se equipó con un electrodo de 7 cm de largo y 0.5 cm de diámetro que sobresalía de una de sus paredes más cortas a 5 cm sobre la cama de aserrín, que al ser tocado por la boca, la nariz o las patas de la rata liberaba una descarga eléctrica de 0.4 mA, generada por una caja de corriente constante (LaFayette Instruments, Inc, Indiana, EEUU; Figura 4B).

La prueba tuvo una duración de 10 min desde el primer choque a la rata con el electrodo, en la que se contabilizó en segundos el tiempo que la rata produjo la conducta de enterramiento al electrodo.

### **Prueba de campo abierto**

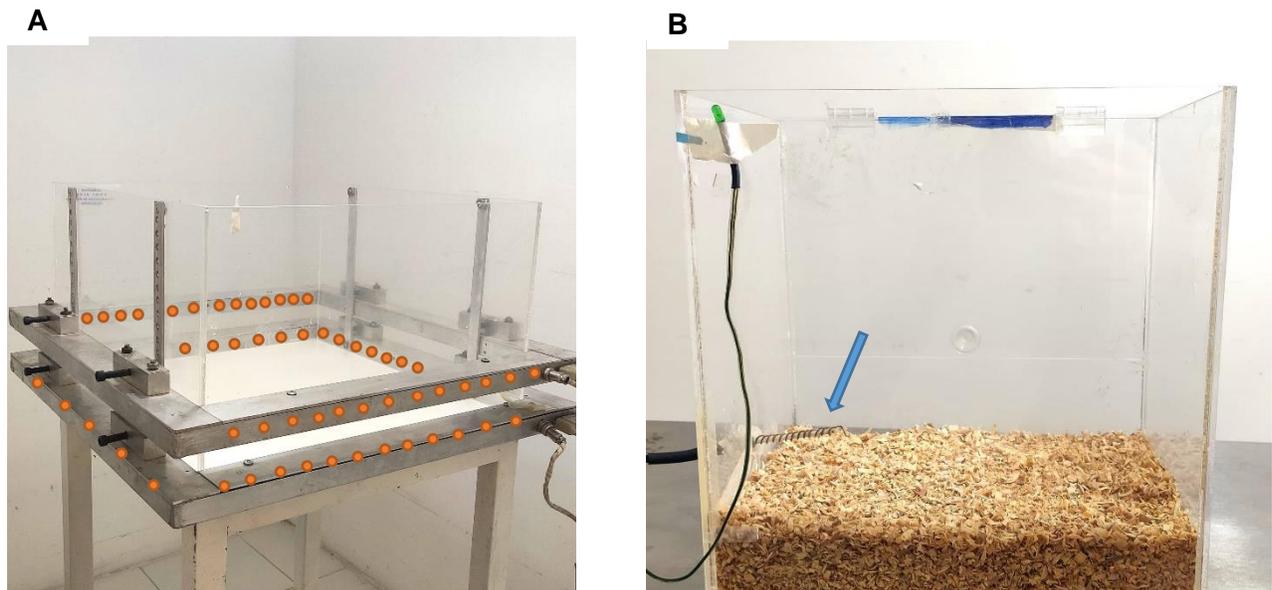
Para medir la locomoción se utilizó un campo abierto (50 x 50 x 50 cm) equipado con celdas fotoeléctricas colocadas en sus paredes opuestas que registraron los movimientos horizontales que los animales realizaban a través de la arena. Además,

el campo abierto contenía a 4.0 cm por encima de la base 13 células fotoeléctricas separadas por una distancia de 5 cm entre ellas en 2 de sus paredes opuestas, para el registro de movimientos verticales. Finalmente, la iluminación en el piso de la arena fue de 138 luxes (Figura 4A).

La prueba de locomoción fue consecutiva a la prueba del enterramiento defensivo y tuvo una duración de 5 minutos, una vez colocada la rata en el centro de la arena.

**Figura 4**

*Pruebas conductuales*



*Nota.* De lado izquierdo campo abierto, en puntos rojos la ubicación de celdas fotoeléctricas. Lado derecho, caja de enterramiento defensivo, flecha azul señalando al electrodo.

## **Cirugía Estereotáxica**

Para la administración intracerebral de fármacos dentro de la amígdala se requirió de la implantación previa de cánulas guías colocadas mediante una cirugía estereotáxica. Para ello, los animales previamente anestesiados con clorhidrato de ketamina (170 mg/kg) fueron fijados a un marco estereotáxico (Figura 5) mediante barras de acero inoxidable que se introdujeron cuidadosamente a sus conductos auditivos externos. La barra incisora del aparato fue introducida por la boca de la rata, teniendo cuidado de que quede colocada a -2.3 mm de la línea horizontal.

Posteriormente se implantaron en el animal, de forma bilateral, cánulas guía de 0.46mm de diámetro externo dirigidas al núcleo central de la amígdala, que fueron fijadas a su cráneo mediante tornillos colocados en los huesos del cráneo y cemento acrílico dental (Laboratorios Arias, Ciudad de México, México), y a las que en el momento de la inyección del fármaco se introdujeron cánulas inyectoras. Las cánulas guía fueron colocadas usando como coordenadas: AP: -2.12 mm, L:  $\pm 4.2$  mm, V: -7.6 mm con respecto al Bregma de acuerdo con el atlas de Paxinos y Watson (1998).

## Figura 5

### *Marco estereotáxico*



*Nota.* Marco estereotáxico provisto con dos barreras de acero inoxidable y una barra incisora para la introducción de la cabeza de la rata, mediante el cual se realizaron cirugías estereotáxicas para la implantación de cánulas guías.

## Variables

La variable independiente en cada experimento fue el tratamiento farmacológico, cuyos niveles (grupos) emplearon los siguientes fármacos (Tabla 6):

Se utilizó clorhidrato de clonidina (Sigma Aldrich, Missouri, EEUU) disuelta en solución salina fisiológica al 0.9%, como agonista selectivo de los receptores alfa 2. La administración de clonidina se realizó a dosis de 1.25  $\mu$ l / lado por vía intracerebral, específicamente en el núcleo central de la amígdala cerebral (Intra-CeA).

Para antagonizar los posibles efectos generados por la clonidina se utilizó clorhidrato de yohimbina, antagonista selectivo de los receptores alfa 2 (Sigma Aldrich, Missouri, EEUU) disuelta en solución salina fisiológica al 0.9% + dimetilsulfóxido al 99.9%. Se probaron dos dosis de este fármaco, 2.5 mg/kg y 5 mg/Kg, que en concordancia con investigaciones previas han mostrado generar efectos ansiogénicos en ratas (Mahoney, 2016; Yeung et al., 2013). La administración de yohimbina se realizó por vía intraperitoneal (i.p.) a un volumen de 1 ml/Kg.

Para los grupos control en los que se requirió de una sustancia inocua, se utilizó solución salina fisiológica al 0.9%. La administración de este fármaco fue tanto intraperitoneal como intra-CeA, según haya sido requerido por el grupo de pertenencia.

Para la depleción de los receptores presinápticos alfa 2 se utilizó clorhidrato de DSP4 (Sigma Aldrich, Missouri, EEUU) disuelto en solución salina fisiológica al 0.9% a una dosis de 50 mg/Kg. Este fármaco se administró de forma intraperitoneal, en un volumen de 1 ml/Kg.

Por otra parte, la variable dependiente utilizada en todos los experimentos fue el tiempo total de enterramiento (TTE), que refleja el índice de ansiedad en la prueba conductual del enterramiento defensivo (Tabla 7), según los parámetros teóricos propuestos por Pinel y Treit (1978).

**Tabla 6**

*Variables farmacológicas.*

Variable farmacológica	Administración	Dosis/concentración
Solución salina fisiológica	Intra-CeA / Intraperitoneal	0.9%
Clorhidrato de Clonidina	Intra-CeA	1.25 µl / lado
Clorhidrato de Yohimbina	Intraperitoneal	2.5mg/Kg ó 5 mg/Kg
Clorhidrato de DSP4	Intraperitoneal	50 mg/Kg

**Tabla 7**

*Variable conductual de la prueba del enterramiento defensivo.*

Variable conductual	Indicador	Unidad de medición
Ansiedad	Tiempo total de enterramiento	Segundos (seg.)

## **Experimentos y definición de grupos**

Este estudio fue dividido en 3 experimentos, de los cuales cada uno tuvo la intención de resolver un objetivo específico de los señalados anteriormente. Algunas generalidades presentes en todos los experimentos son la asignación al azar de los animales a cada grupo, además de la medición del tiempo total de enterramiento en la prueba del enterramiento defensivo como variable dependiente y el tratamiento farmacológico como variable independiente, cuyos niveles (grupos) se describen a continuación:

El primer experimento tuvo el objetivo de evaluar el efecto de la administración intra-CeA del agonista selectivo del receptor alfa 2, clonidina, en la ansiedad; para lo cual se formaron 2 grupos (solución salina fisiológica y clonidina intra-CeA) (Tabla 8).

El segundo experimento tuvo el objetivo de verificar si la administración intraperitoneal previa del antagonista selectivo de los receptores alfa 2, yohimbina, previene los efectos originados por la administración intra-CeA de clonidina en la conducta de ansiedad. Para lo cual se utilizaron tres grupos: un control y dos experimentales con distintas dosis de antagonista i.p + clonidina intra-CeA (Tabla 9)

El tercer y último experimento tuvo el objetivo de examinar si los efectos producidos por la manipulación farmacológica, observados en las fases anteriores, están mediados a través de los receptores alfa 2 presinápticos. Para ello, se formaron 4 grupos que contenían las combinaciones posibles, entre el tratamiento intraperitoneal con la neurotoxina DSP4 o SSF, y el tratamiento intra-CeA con clonidina o SSF, los grupos fueron conformados como se observa en la Tabla 10.

**Tabla 8***Definición de grupos experimento 1*

---

Grupo	Componentes
Control	SSF Intra-CeA
Experimental	Clonidina 1.25 µl/ lado Intra-CeA

---

**Tabla 9***Definición de grupos experimento 2*

---

Grupo	Componentes
Control	SSF Intra-CeA + SSF i.p.
Experimental 1	Clonidina 1.25 µl/ lado intra-CeA + yohimbina 2.5 mg/Kg i.p.
Experimental 2	Clonidina 1.25 µl/ lado intra-CeA + yohimbina 5 mg/Kg i.p.

---

**Tabla 10***Definición de grupos experimento 3*

---

Grupo	Componentes
Control	SSF Intra-CeA + SSF i.p.
Experimental 1	SSF Intra-CeA + DSP4 50 mg/kg i.p.
Experimental 2	Clonidina 1.25 $\mu$ l/ lado intra-CeA + SSF i.p.
Experimental 3	Clonidina 1.25 $\mu$ l/ lado intra-CeA + DSP4 50 mg/Kg i.p.

---

## **PROCEDIMIENTO**

### **Preparación de animales.**

Las ratas Wistar fueron recolectadas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM y trasladadas en grupos de 5 al laboratorio AL204. Cada rata fue pesada para verificar que se encontraba dentro del parámetro de 250 g +/- 10.

Durante la primera semana desde la recolección, cada rata fue sometida a una cirugía estereotáxica para la implantación de cánulas como se describió anteriormente. Posterior a la cirugía cada rata fue alojada individualmente en cajas de plexiglás con agua y alimento ad libitum. Finalmente, se dio un periodo de recuperación postoperatorio de 7 días, previo a la ejecución de las pruebas conductuales.

### **Preparación de animales (Experimento 3).**

Para una correcta depleción de las terminales noradrenérgicas provenientes del locus coeruleus con DSP4 y la recuperación del tono noradrenérgico periférico, se requiere de un período de 21 días desde la aplicación del tratamiento hasta la ejecución de pruebas conductuales o análisis químico-biológicos. Debido a esto, se siguió una variación en la preparación de animales, respecto a los experimentos anteriores.

Una vez recolectadas y pesadas con un parámetro de 180 g +/- 10, cada rata fue asignada al azar e inyectada intraperitonealmente con alguno de los siguientes tratamientos en un volumen de 1 ml/kg: SSF al 0.9 % ó DSP4 a dosis de 50 mg/kg.

Una vez administrado alguno de los tratamientos en cada rata, se dio un período de 7 días para el aumento de peso a 250 g. Posteriormente, durante los siguientes 7 días se realizaron cirugías estereotáxicas para la implantación de cánulas a cada rata. Finalmente, los animales tuvieron un periodo de recuperación postoperatorio de 7 días, previo al inicio de las pruebas conductuales.

## **Protocolo de la prueba conductual.**

### **Habitación**

Después del periodo de recuperación de 7 días otorgado en todas las fases de estudio, las ratas fueron alojadas durante 3 días consecutivos en el cuarto de registro conductual, donde fueron habituadas diariamente por 5 min a la inmovilización y al experimentador. Adicionalmente, las ratas se introdujeron individualmente a la caja del enterramiento defensivo (sin electrodo) durante 10 min por día para habituarse al lugar de la prueba.

### **Administración de fármacos.**

En el día subsecuente al período de habitación, las ratas fueron asignadas aleatoriamente a alguno de los grupos determinados por la fase de estudio que estuviera en curso. Posteriormente, cada rata fue microinfundida en el núcleo central de la amígdala con clonidina (1.25  $\mu$ l/lado) o SSF (0.9 %), según su grupo de pertenencia; seguido de un lapso de 5 min para la difusión del fármaco.

Los fármacos que fueron infundidos dentro de la amígdala se administraron en un volumen de 0.25 microlitros por lado, a través de cánulas inyectoras que se introdujeron a las cánulas guía previamente implantadas. Dichas cánulas fueron conectadas por medio de líneas de polietileno a jeringas hamilton de 50 microlitros accionadas por una bomba de infusión (CMA Microdialisis, Stockholm, Sweden) a una velocidad de 0.06 microlitros por minuto.

Para el experimento 2 del estudio se requirió de una administración intraperitoneal adicional a la intra-amigdalina; por lo cual, 25 min antes de la microinfusión intra-amigdalina se administró en cada rata una inyección intraperitoneal de yohimbina (2.5mg/Kg ó 5 mg/Kg) o SSF (0.9 %). Las inyecciones intraperitoneales fueron realizadas con jeringas de insulina (BD Plastipak 27G x 13 mm) en un volumen de 1 ml/ kg.

### **Prueba del enterramiento defensivo.**

Una vez realizada la administración farmacológica, cada rata fue introducida individualmente a la caja de enterramiento defensivo, siendo colocadas con la cabeza mirando hacía el electrodo, que fue introducido exclusivamente en este día. Se le permitió a las ratas explorar el ambiente y al hacer contacto con el electrodo recibieron un choque eléctrico de 0.4 mA. Posterior al primer choque eléctrico, el experimentador salió del cuarto de conducta hacía el área de registro y se contabilizaron 10 minutos, en los que se registró el tiempo que la rata presentó la conducta de enterramiento hacía el electrodo.

## **Prueba de campo abierto**

La prueba de campo abierto se realizó inmediatamente después de haberse terminado la prueba del enterramiento defensivo, y tuvo una duración de 5 minutos. La prueba se inició al colocar a los animales en el centro de la arena. Durante el periodo de la prueba se evaluó, como índice de locomoción, el número de veces que se interrumpió el paso de luz entre celdas fotoeléctricas opuestas por acción del movimiento de los animales en la arena, definida como “eventos”.

## **Evaluación de noradrenalina**

Para el experimento 3, se requirió la medición de la concentración de noradrenalina en el núcleo central de la amígdala, con el fin de comprobar que el tratamiento con DSP4 fue eficaz para la depleción de las terminales noradrenérgicas provenientes del locus coeruleus. Para este fin, al concluir el protocolo de pruebas conductuales se obtuvieron las muestras en fresco del núcleo central de la amígdala de 6 animales de cada grupo, DSP4 y SSF. Posteriormente, dichas muestras fueron enviadas al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) en colaboración con la doctora Luisa Lilia Ramos Rocha, para evaluar la concentración de noradrenalina en las muestras mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

## **Histología**

Al día siguiente de realizarse las pruebas conductuales, los animales fueron eutanizados mediante una cámara de difusión de CO<sub>2</sub> durante 5 minutos. Los cerebros fueron extraídos y colocados sucesivamente en el siguiente relevo de soluciones: paraformaldeído al 4% (24 h), sacarosa al 10% (24 h), sacarosa al 20% (24 h) y sacarosa al 30% (24 h) con el objeto de post-fijarlos y protegerlos de los efectos de la congelación.

Una vez realizado este procedimiento se obtuvieron cortes coronales de 45 µm en un criostato (CM 1510-3, Leica Instruments, Nussloch, Germany) ajustado a una temperatura de entre -20 a -25 °C. Posteriormente fueron teñidos con violeta de cresilo y observados al microscopio para verificar la posición de las cánulas dentro de la amígdala cerebral, tomando como referencia el atlas de Paxinos y Watson (1998). Sólo las ratas en las que ambas puntas de las cánulas se encontraban en el núcleo central de la amígdala fueron incluidas en el estudio.

## **Análisis Estadísticos**

Para determinar el uso de la estadística paramétrica o no paramétrica se realizó en todos los grupos de datos la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homogeneidad de varianza de Leven.

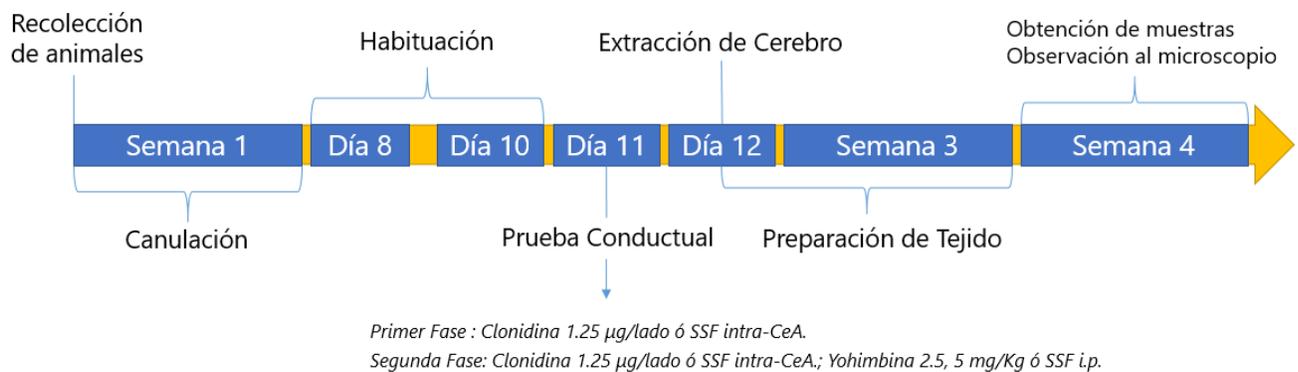
En el experimento 1, se aplicó la prueba t de student para muestras independientes (estadística paramétrica), con el fin de analizar las diferencias entre el grupo control y el grupo experimental tratado con clonidina.

Para analizar los efectos de la clonidina en conjunto con la administración intraperitoneal de yohimbina, en el experimento 2, se realizó la prueba Kruskal-Wallis seguida de la prueba post-hoc de Dunn (estadística no paramétrica), para comprobar la existencia de diferencias significativas entre los 3 grupos de contraste.

En cuanto al experimento 3, se realizó una prueba t de student para muestras independientes, con el fin de comparar la concentración nanomolar de noradrenalina entre el grupo tratado con solución salina fisiológica y el grupo tratado con la neurotoxina DSP4. Adicionalmente, se utilizó el análisis de diferencias Kruskal-Wallis con el análisis post-hoc de Dunn, para comprobar las diferencias existentes en el tiempo total de enterramiento entre los 4 grupos experimentales que componen esta fase.

### Figura 6

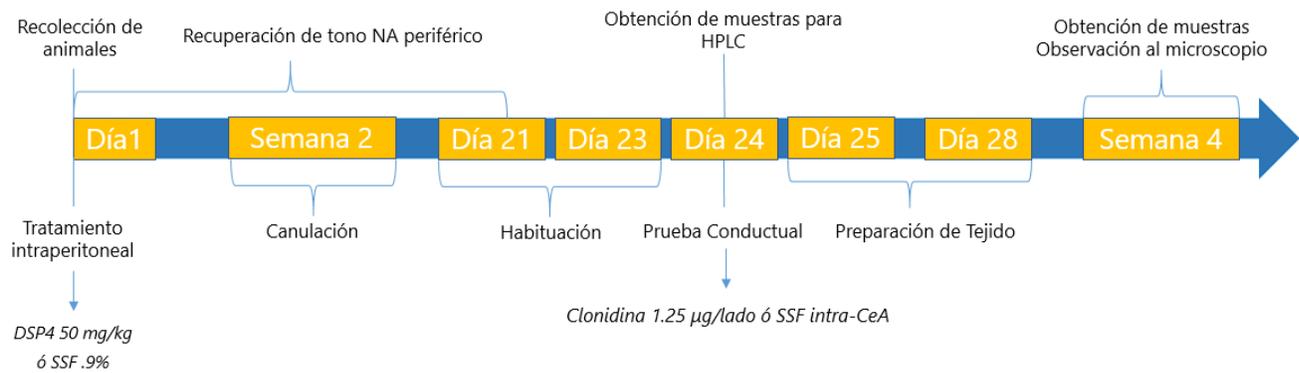
*Línea temporal del procedimiento del estudio experimento 1 y 2.*



*Nota.* Representación en línea temporal del procedimiento realizado en el experimento 1 y 2 del estudio; desde la recolección de animales hasta la obtención de muestras y análisis al microscopio.

## Figura 7

Línea temporal del procedimiento de la experimento 3.



*Nota.* Representación en línea temporal del procedimiento realizado en el experimento 3 del estudio; desde la recolección de animales hasta la obtención de muestras y análisis al microscopio.

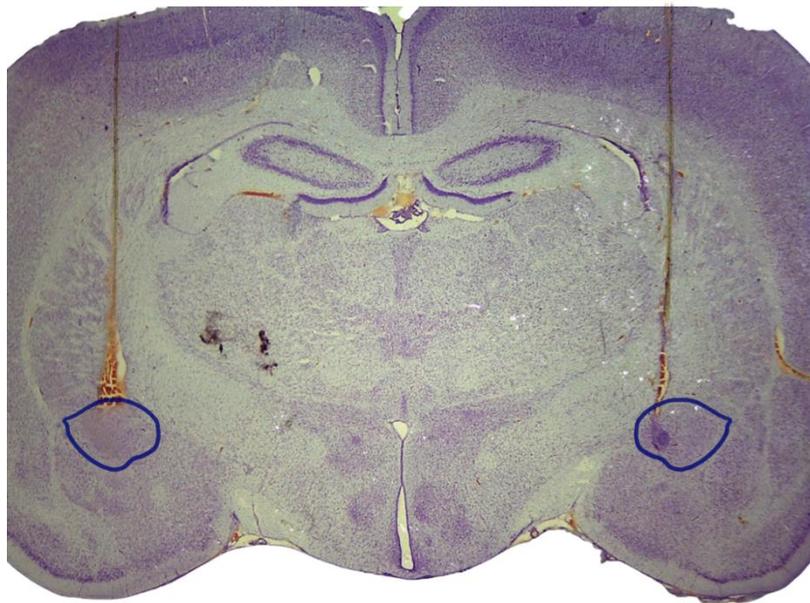
## RESULTADOS

### Histología

Las muestras coronales 45  $\mu\text{m}$  del cerebro de cada rata fueron observadas individualmente a través de un microscopio Leica DM500, con ayuda del programa Leica Application Suit – LAS EZ fueron amplificadas para visualizarse. Cada corte fue contrastado con la representación del atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1998) coordenadas AP: -2.12, LM: +/- 4.2 y VD: -7.6. Sólo las ratas, cuya punta de la cánula guía se encontraba sobre o dentro del núcleo central amigdalino (CeA), fueron incluidas para los análisis estadísticos de los experimentos (véase figura 8).

### Figura 8

*Imagen representativa de la posición de las cánulas en el CeA.*



*Nota.* Núcleo central amigdalino, delineado en color azul, bajo las cánulas guía.

## **Resultados experimento 1**

### **Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas.**

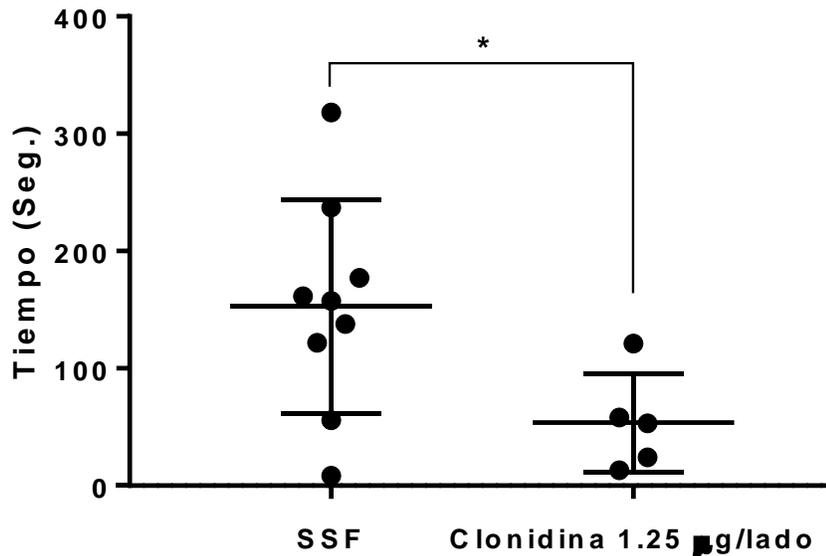
En el experimento 1, cuyo fin fue probar los efectos ansiolíticos de la clonidina en la prueba de enterramiento defensivo, se realizó en primera instancia la prueba de normalidad Shapiro-Wilk, recomendada para  $n < 30$  datos, tomando como variable dependiente el tiempo total de enterramiento en la prueba del enterramiento defensivo; los resultados del análisis mostraron una distribución normal ( $p > .05$ ). Posteriormente se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas de Leven, que mostró una varianza homogénea entre los grupos de comparación ( $p > .05$ ). En concordancia con estos resultados, se empleó estadística paramétrica para el análisis de los datos.

### **Prueba de Enterramiento Defensivo**

Con el fin de cumplir con el objetivo de conocer si existían diferencias significativas en el tiempo total de enterramiento en ratas microinfundidas intra-CeA con clonidina (1.25  $\mu$ l/lado) en comparación con controles, se llevó a cabo una prueba t de student, tomando como variable independiente el fármaco infundido (SSF o clonidina) y como variable dependiente el tiempo total de enterramiento en la prueba del enterramiento defensivo. Se encontró una  $t(12) = 2.26$ ,  $p < .05$ , IC95% [3.70, 194.08]. Los resultados se pueden ver en la Figura 9.

## Figura 9

*Diferencias en el tiempo total de enterramiento, experimento 1.*



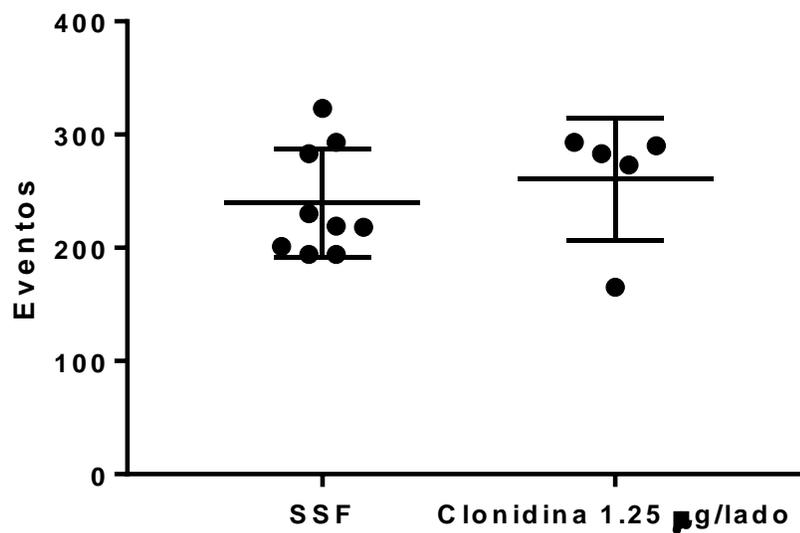
*Nota:* La gráfica muestra diferencias significativas en el TTE en los grupos tratados con clonidina intra-CeA en comparación con los grupos tratados con SSF, mostrando el grupo tratado con clonidina un menor tiempo de enterramiento. Los resultados son presentados en Media y SD;  $t=2.26$ ,  $*p. <0.05$ .

## Locomoción.

Para evaluar el impacto de los tratamientos en la locomoción, medidos a través del campo abierto, se realizó una prueba t de student para muestras independientes, de la cual se concluyó que no existen diferencias significativas entre los grupos de tratamiento  $t(12) = 0.76$ ,  $p >.05$ , IC95% [-39.44, 82.15] (Figura 10).

## Figura 10

*Prueba de locomoción, experimento 1.*



*Nota:* Número de eventos determinados por el cruce de haces de luz en la prueba de locomoción, no existen diferencias significativas entre el número de eventos del grupo tratado con clonidina intra-CeA y el grupos tratados con SSF. Los resultados son presentados en Media y SD.  $t=0.76$ ,  $sig.=.45$ .

## **Resultados experimento 2**

### **Prueba de normalidad y homogeneidad.**

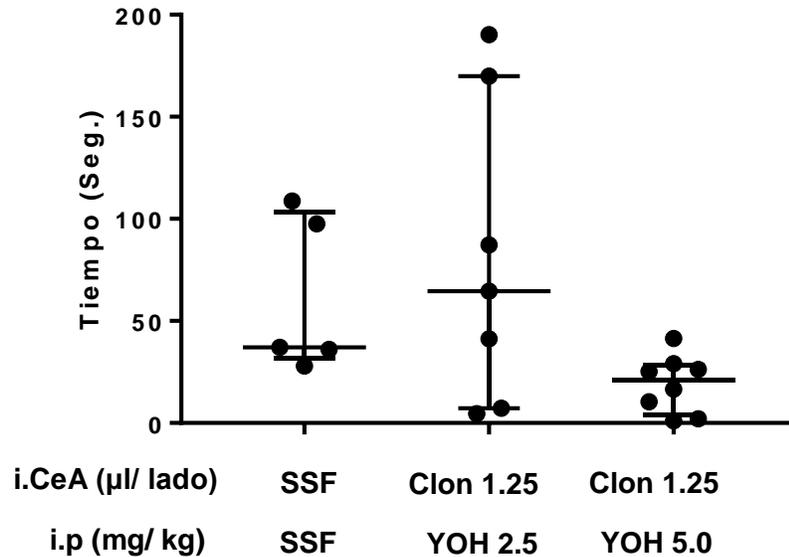
El tiempo total de enterramiento fue evaluado mediante la prueba de Shapiro-Wilk, para evaluar la distribución de los datos. Los resultados de la prueba muestran que no existe una distribución normal entre los grupos de comparación ( $p < .001$ ). Por su parte, la prueba de homogeneidad de varianzas de Leven mostró diferencias significativas en la homogeneidad de los grupos ( $p < 0.01$ ). Tomando en cuenta los resultados obtenidos en estas pruebas, se optó por hacer uso de la estadística no paramétrica para los análisis estadísticos del experimento 2.

### **Prueba de Enterramiento Defensivo.**

Para comprobar si el efecto ansiolítico de la clonidina mostrado en el experimento 1 está mediado específicamente a través de los receptores alfa 2, se administró de manera conjunta con el antagonista selectivo yohimbina intraperitonealmente. Para este fin se realizó una prueba de análisis de diferencias Kruskal-Wallis, para contrastar el tiempo total de enterramiento de los 3 grupos experimentales que conforman este experimento. Los resultados del análisis muestran que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales  $H = 5.74$   $p > .05$  (Figura 11).

## Figura 11

*Diferencias en el tiempo total de enterramiento, experimento 2.*



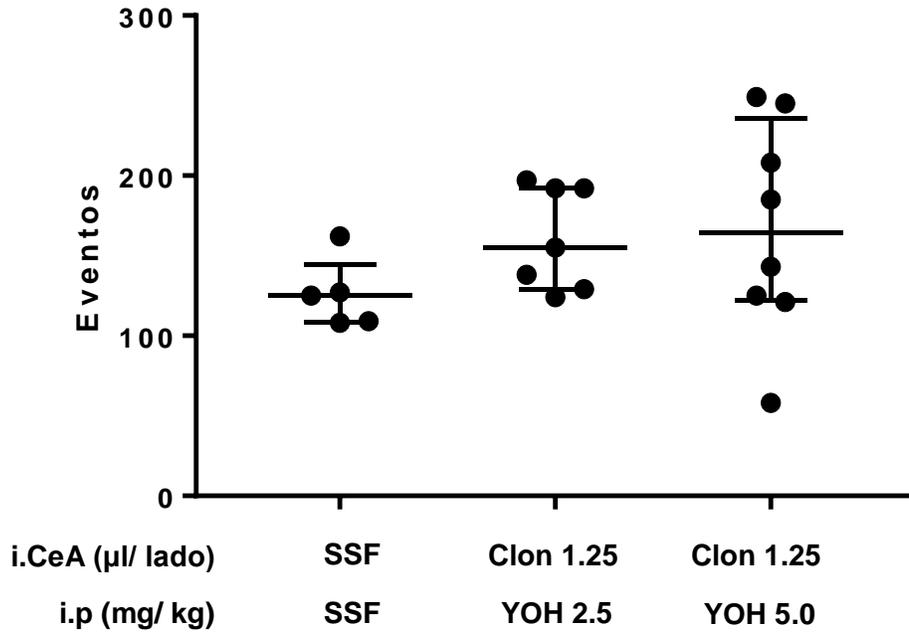
*Nota:* No existen diferencias significativas en el TTE en los grupos tratados con clonidina intra-CeA (i.CeA) en presencia de yohimbina intraperitoneal (i.p.)  $H = 5.74$   $p > .05$ . Los resultados son presentados en mediana y rango intercuartil,  $n=20$ .

## Locomoción

Para comprobar si los tratamientos tuvieron efectos en la locomoción se realizó el análisis de diferencias Kruskal-Wallis, contrastando el número de eventos en la prueba de campo abierto. Los resultados obtenidos revelaron que no existen diferencias significativas en el número de eventos entre los grupos de comparación  $H = 3.06$   $p > .05$ .

## Figura 12

*Prueba de locomoción, experimento 2.*



*Nota:* Número de eventos determinados por el cruce de haces de luz en la prueba de locomoción, no existen diferencias significativas en el número de eventos entre los grupos. Los resultados son presentados en mediana y rango intercuartil.  $H = 3.06$   $p > .05$

## **Resultados Experimento 3**

### **Prueba de normalidad y homogeneidad.**

En primera instancia se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, tomando como variable dependiente el tiempo total de enterramiento, mostrando que los datos del experimento tres presentaron una distribución normal ( $p >.05$ ). Por otra parte, la prueba de homogeneidad de varianzas de Leven reveló que los grupos no mostraron una variabilidad homogénea ( $p <.05$ ). Considerando que no se cumplieron todos los criterios para el uso de la estadística paramétrica, se utilizó estadística no paramétrica para los análisis conductuales del experimento tres.

Asimismo, los datos obtenidos mediante HPLC sobre la concentración nanomolar de noradrenalina, fueron sometidos al mismo análisis de normalidad y homogeneidad de varianzas. La prueba de Shapiro-Wilk mostró que los datos presentaban una distribución normal ( $p >.05$ ); por su parte, la prueba de Leven reveló que los datos presentaban homogeneidad de varianzas ( $p >.05$ ). Tomando en cuenta los resultados obtenidos, se utilizó estadística paramétrica para la evaluación de la concentración nanomolar de noradrenalina.

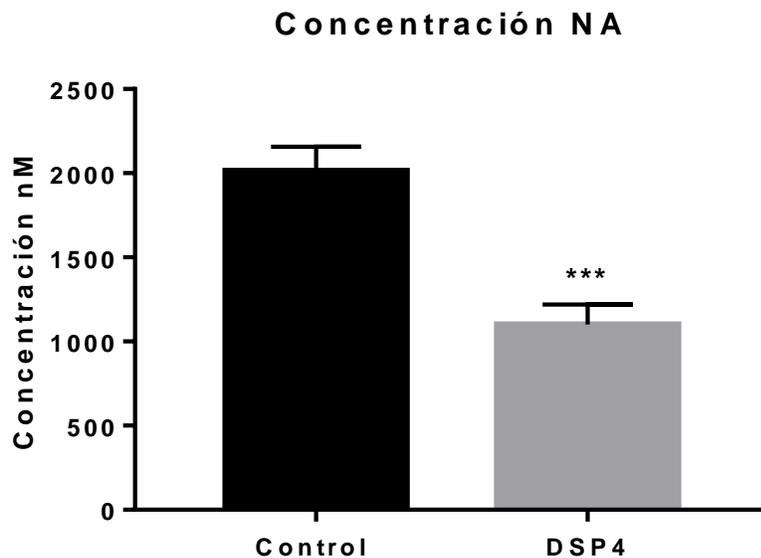
### **Concentración de noradrenalina.**

Para verificar que el tratamiento con la neurotoxina DSP4 fue eficaz en la depleción de las terminales noradrenérgicas provenientes del núcleo coeruleus, se compararon las concentraciones nanomolares (nM) de NA entre el grupo tratado con DSP4 y el grupo control.

Se realizó una prueba t de student para grupos independientes, que reveló diferencias significativas en la concentración nM de NA entre el grupo tratado con DSP4 y el tratado con SSF,  $t(10) = 4.81$ ,  $p = 0.001$ , IC95% [496.08, 1329.33]. Mostrando que el tratamiento con DSP4 fue eficaz en la depleción de las terminales noradrenérgicas (Figura 13).

### Figura 13

*Concentración nanomolar de NA por HPLC*



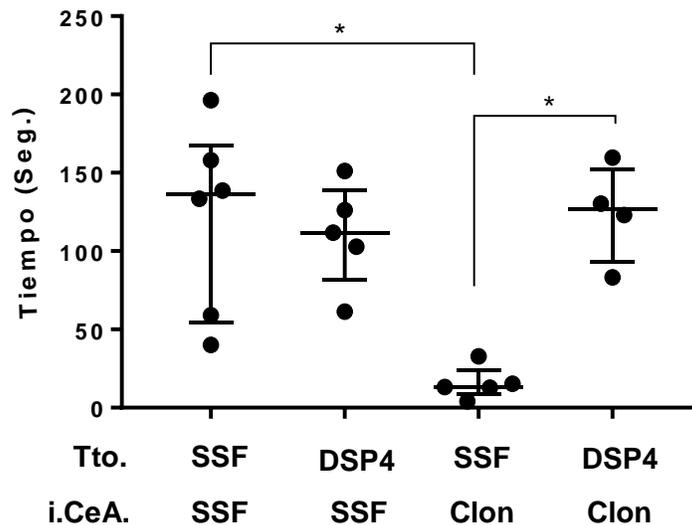
*Nota:* Concentración nM de noradrenalina en el CeA, comparación entre el grupo tratado con SSF, y el grupo tratado con la neurotoxina DSP4. La gráfica muestra una diferencia significativa en la cantidad de noradrenalina entre los grupos.  $t = 4.81$ ,  $***p = .001$ .

## Prueba de enterramiento defensivo.

En cuanto a la prueba de enterramiento defensivo, se realizó la prueba Kruskal-Wallis para analizar las diferencias entre el tiempo total de enterramiento entre los 4 grupos experimentales. Los resultados obtenidos por el análisis mostraron diferencias significativas ( $H = 11.02$ ,  $p < .05$ ). Posteriormente, mediante la prueba post-hoc de Dunn, se ubicaron las diferencias entre el grupo tratado con DSP4 + clonidina i.CeA y el grupo tratado con SSF + clonidina i.CeA ( $p < .05$ ); además de una diferencia significativa entre el grupo control (SSF + SSF i.CeA) y el grupo tratado con SSF + clonidina i.CeA, ( $p < .05$ ). Dichos resultados sugieren que la depleción de los receptores presinápticos alfa 2 imposibilitó la acción de la clonidina.

### Figura 14

*Diferencias en el tiempo total de enterramiento, experimento 3.*



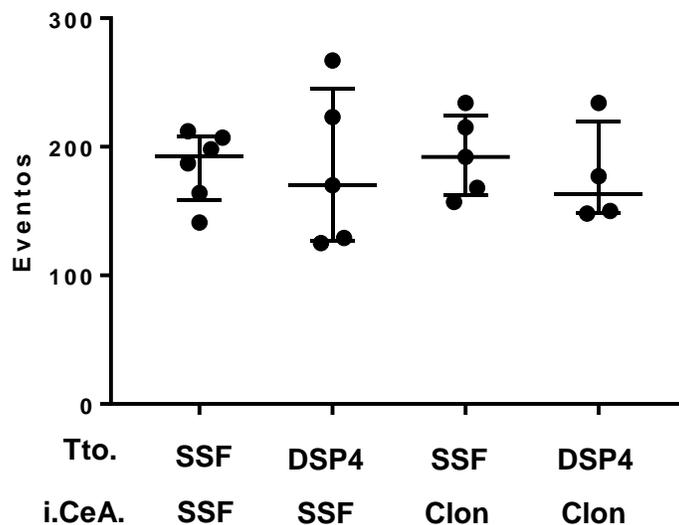
*Nota:* Existen diferencias significativas en el TTE en el grupo con tratamiento de DSP4 (50 mg/Kg) + clonidina intra-CeA (1.25  $\mu$ l/lado) y el grupo tratado con SSF y clonidina  $H = 11.02$   $p < .05$ . Tratamiento (Tto), intra-CeA (i.CeA) Los resultados son presentados en mediana y rango intercuartil.

## Locomoción

Finalmente, para comprobar si los tratamientos tuvieron un efecto en la locomoción, se realizó el análisis de diferencias de Kruskal-Wallis. Los resultados obtenidos muestran que no hubo diferencias significativas en el número de eventos marcados por la prueba de campo abierto entre los grupos ( $H=.58$ ,  $p >.05$ ) Figura 15.

**Figura 15**

*Prueba de locomoción, experimento 3.*



*Nota:* Número de eventos determinados por el cruce de haces de luz en la prueba de locomoción. No existen diferencias significativas en el número de eventos entre los grupos. Los resultados son presentados en mediana y rango intercuartil. ( $H=.58$ ,  $p >.05$ )

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación revelan la importancia de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, distribuidos en la amígdala cerebral, en la modulación de la ansiedad.

El núcleo central de la amígdala cerebral representa la central emisora de los estímulos de saliencia, originados en la amígdala cerebral, para comunicar la respuesta de miedo o ansiedad hacia otras estructuras (Pérez de la Mora, 2008; Janak, 2015). A pesar de la importancia que esta estructura representa en el estudio de la ansiedad, no se ha generado información concluyente sobre la función de los receptores alfa 2 noradrenérgicos que se encuentran ampliamente distribuidos en esta área (Glass, 2002).

Como se pudo observar en el experimento 1, que tenía como objetivo conocer si la infusión directa de clonidina, agonista selectivo de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, en el CeA era capaz de producir efectos ansiolíticos, se encontró que esta microinfusión generó efectos ansiolíticos en la prueba del enterramiento defensivo. Esta aseveración pudo observarse en la menor cantidad de tiempo que los animales tratados con clonidina pasaron enterrando el electrodo electrificado, conducta que representa el índice psicológico de ansiedad que padecen los animales en esta prueba, proponiendo así un efecto ansiolítico que los receptores alfa 2 noradrenérgicos distribuidos en la amígdala cerebral ejercen en la conducta (Pinel y Treit, 1978).

Al ser considerada la clonidina como un agonista selectivo de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, se pueden atribuir los efectos ansiolíticos observados en este estudio a la activación de dichos receptores. Los receptores alfa 2 noradrenérgicos, poseen la particularidad de ser los únicos receptores noradrenérgicos acoplados exclusivamente a proteínas Gi, cuya acción conocida es la inhibición del adenilato ciclasa y la reducción de AMPc, culminando en la inhibición de la liberación de noradrenalina en las neuronas adrenérgicas. Siendo así, los resultados de la presente investigación sugieren que la inhibición de la liberación de noradrenalina en el núcleo central de la amígdala conduce a una disminución de la ansiedad; presentando un importante papel regulatorio dirigido tanto por el núcleo central de la amígdala, como por la acción de los receptores alfa 2 noradrenérgicos presentes en el núcleo, rol que en investigaciones previas no se había estudiado a profundidad.

Así, los hallazgos presentados en este estudio se suman a la evidencia generada en múltiples investigaciones que apoyan el papel regulatorio que los receptores alfa 2 tienen sobre la liberación de noradrenalina y la modulación de la conducta de ansiedad. Tal es el caso del papel ansiolítico que la administración de clonidina genera en la corteza frontal, prelímbica y en el complejo basolateral de la amígdala cerebral (Wu, 2019; Bashiri, 2016; Ye, 2018); regiones que se encuentran ampliamente interconectadas con el núcleo central de la amígdala cerebral. Además, dada la importancia que estas estructuras tienen para la neurobiología de la ansiedad, puede hipotetizarse que la función de los receptores alfa 2 noradrenérgicos en estas áreas puede ser homóloga, y debe investigarse si en otras estructuras importantes para las vías neurales de la ansiedad se presentan los mismos resultados.

De esta forma, se fortalece la evidencia que señala a los receptores alfa 2 noradrenérgicos como estructuras claves en la modulación de noradrenalina, y con

ello de la conducta de ansiedad, a través de distintas áreas cerebrales. Por lo cual este estudio, también ayuda a generar información de estos receptores en el núcleo central de la amígdala cerebral, estructura de suma importancia para la génesis y modulación de la ansiedad.

Por otra parte, otro logro en este estudio fue generar evidencia farmacológica que los resultados observados se debieron específicamente a través de los receptores alfa 2 noradrenérgicos; como se enunciaba en el segundo objetivo de esta investigación, que buscaba conocer si la administración simultánea del antagonista selectivo yohimbina era capaz de prevenir los efectos del agonista clonidina. Evidencia que no se encontraba presente en estudios anteriores (Wu, 2019; Aghajanian y Vander Maelen, 1982; Khoshbouei et al., 2002).

Como se pudo observar en el experimento 2 de este estudio, la administración simultánea del antagonista con el agonista no mostró diferencias significativas en el tiempo total de enterramiento en la prueba del enterramiento defensivo, lo que sugiere que los efectos ansiolíticos de la clonidina fueron prevenidos por la administración del antagonista selectivo yohimbina, asegurando así que los efectos conductuales hallados son mediados específicamente a través de los receptores alfa 2 noradrenérgicos.

Adicionalmente, una limitación presente en este estudio fue la ausencia de grupos tratados exclusivamente con las dosis utilizadas de yohimbina, 2.5 mg/kg y 5 mg/kg, para poder observar de forma aislada el impacto de la yohimbina en la prueba del enterramiento defensivo. Esto con el fin de corroborar que los resultados obtenidos con este fármaco pueden ser comparables con los hallados por Yeung et al (2013) y Mahoney (2016), de los cuáles fueron seleccionadas las dosis utilizadas.

También se sugiere para futuras investigaciones evaluar la efectividad de la yohimbina como antagonista de los receptores alfa 2 noradrenérgicos según su vía de administración. La vía de administración más utilizada para este fármaco en el estudio de la ansiedad es la intraperitoneal (Yeung et al., 2013; Mahoney, 2016; Lang and Gershon, 1963; Bremner et al., 1996a); sin embargo, como puede observarse en el trabajo de Bashiri (2016), la administración intracerebral de yohimbina también es capaz de generar efectos antagónicos potentes de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, facilitando al fármaco la llegada a su sitio de acción, a fin de economizar recursos y tiempo de difusión del fármaco en la sesión experimental.

Finalmente, se abordó el tercer objetivo de la investigación, que consistía en determinar si los efectos ansiolíticos de los receptores alfa 2 noradrenérgicos estaban determinados por los receptores alfa 2 presinápticos o postsinápticos. Para ello, en este estudio se desarrolló un protocolo de tratamiento con la neurotoxina DSP4 eficiente para la depleción de las terminales noradrenérgicas provenientes del locus coeruleus en la amígdala cerebral, apoyado en los resultados obtenidos en el experimento 3, mediante el análisis la concentración de noradrenalina por HPL; hallazgo que no había sido descrito previamente en la literatura. Generando así una referencia procedimental para futuras investigaciones cuyo objeto de estudio requiera de la depleción de las terminales noradrenérgicas provenientes del locus coeruleus en esta estructura.

Como se pudo observar en el experimento 3, el tratamiento con DSP4 logró prevenir los efectos ansiolíticos de la clonidina microinfundida en el CeA, en la prueba del enterramiento defensivo. Estos resultados sugieren que con la depleción de los receptores alfa 2 presinápticos en la amígdala cerebral, desaparecen los efectos

ansiolíticos producidos por estos receptores. Así, este estudio genera evidencia para enunciar que los efectos ansiolíticos producidos por los receptores alfa 2 noradrenérgicos están mediados a través de los receptores presinápticos.

Contrario a los resultados obtenidos en el BLA por Mineur (2018), quien enuncia que los efectos ansiolíticos de los receptores alfa 2 son postsinápticos, los hallazgos de este estudio sugieren que en el CeA los efectos regulatorios de estos receptores están ubicados en la presinápsis; este contraste puede ser explicado por diferencias metodológicas entre los estudios, la prueba conductual utilizada o incluso la existencia de una acción diferencial de estos receptores entre los núcleos de la amígdala cerebral para la modulación de la ansiedad. Consideración que debe estudiarse a detalle en próximas investigaciones.

Finalmente, la prueba del enterramiento defensivo es una prueba validada para el estudio de la ansiedad (De Boer y Koolhaas, 2003; Pinel y Treit, 1978); sin embargo, no ha sido ampliamente utilizada en el estudio de los receptores alfa 2 noradrenérgicos. Este estudio ha mostrado que la prueba del enterramiento defensivo es sensible a los efectos producidos por la manipulación farmacológica de los receptores alfa 2, sugiriendo ampliar el uso de esta prueba en este tópico de estudio.

## PERSPECTIVAS

Como se pudo analizar en esta investigación el estudio de los receptores alfa 2 noradrenérgicos aún mantiene muchos vacíos en el conocimiento de las funciones específicas que tiene a lo largo del cerebro y el SNC, especialmente en la conducta de ansiedad. Esta investigación muestra la importancia, del papel de estos receptores en este tópico de estudio; por lo cual, las consideraciones y sugerencias aquí descritas, deben de ser tomadas en cuenta y estudiadas, para poder lograr un mayor entendimiento de estos receptores y su papel en la neurobiología de la ansiedad.

La importancia de considerar a los receptores alfa 2 noradrenérgicos para el estudio de la ansiedad está presente a lo largo de este trabajo; sin embargo, la ansiedad como trastorno psicológico guarda una estrecha relación con la depresión, existiendo una fuerte comorbilidad entre ambos trastornos. Cada vez existen más estudios que comienzan a develar la existencia de un papel de estos receptores en la depresión (Gatechew, 2017; Maletic, 2017; Uys, 2017); por lo cual, el estudio comparativo del papel de estos receptores entre ambos trastornos psicológicos puede aportar, a su vez, valiosa información que pueda ayudar a explicar los sustratos biológicos que dan lugar a esta comorbilidad.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación revelan la importancia de los receptores alfa 2 noradrenérgicos en la modulación amigdalina de la ansiedad. Mostrando que la activación de estos receptores, mediante el agonista selectivo clonidina, es capaz de generar efectos ansiolíticos en la conducta. Efectos cuya especificidad fue comprobada mediante la administración del antagonista selectivo yohimbina.

Por otra parte, se comprobó mediante el tratamiento con la neurotoxina DSP4, que los efectos hallados en estos receptores están mediados a través de los receptores alfa 2 noradrenérgicos presinápticos. Aportando así, además de la eficacia de estos receptores en la modulación de la ansiedad, el sitio de acción en la que sus efectos son producidos.

La ansiedad como trastorno es un fenómeno creciente a nivel mundial, como se puede observar en nuestro país y en el mundo entero (OMS). Por lo cual, el conocimiento acerca del sustrato biológico que la produce y modula se vuelve cada vez más necesario, además de requerir mayor especificidad en este conocimiento para el desarrollo de nuevos y mejores tratamientos. Los hallazgos obtenidos en esta investigación, apuntan a un estudio más profundo de la farmacológica conductual de estos receptores en el SNC, para poder conocer su potencial terapéutico en los trastornos de ansiedad.

## REFERENCIAS

- Aghajanian G. K., Vander-Maelen C. P. (1982). Alpha 2-adrenoceptor-mediated hyperpolarization of locus coeruleus neurons: intracellular studies in vivo. *Science*, 215:1394–6.
- Alfonso Águila, B., Calcines Castillo, M., Monteagudo de la Guardia, R., & Nieves Achon, Z. (2015). Estrés académico. *Edumecentro*, 7(2), 163-178.
- American Psychiatric Association (2013). *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos mentales*. México: Panamericana.
- Askew, G., y Smith-Stoner, M. (2001). *The Pharmacy Assistant (Clinical Allied Healthcare Series)*. Clifton Park, NY: Thomson Delmar Learning. pp. 4-6.
- Ayala, A. E. (2012). Trastornos de ansiedad: agorafobia y crisis de pánico. *Farmacia profesional*, 26(6), 32-39.
- Bashiri, H., Rezayof, A., Sahebgharani, M., Tavangar, S. M., & Zarrindast, M. R. (2016). Modulatory effects of the basolateral amygdala  $\alpha$ 2-adrenoceptors on nicotine-induced anxiogenic-like behaviours of rats in the elevated plus maze. *Neuropharmacology*, 105, 478–486.
- Benarroch, E. E. (2018). Locus coeruleus. *Cell and tissue research*, 373(1), 221-232.
- Blair, H.T., Schaffe, G.F., Bauer, E.P., Rodrigues, S.M., Le Doux, J.E. (2001). Synaptic plasticity in the lateral amygdala: a cellular hypothesis of fear conditioning. *Learn. Mem.* 8, 229–242.
- Bourin, M., Petit-Demouliere, B., Dhonnchadha, B. N., & Hascoet, M. (2007). Animal models of anxiety in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 21, 567–574.

- Boyer, P. (2000). Do anxiety and depression have a common pathophysiological mechanism?. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 102, 24-29.
- Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, Charney DS (1996)a. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety. 1. Preclinical studies. *Synapse*, 23:28–38.
- Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, Charney DS (1996)b. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety. 2. Clinical studies. *Synapse*, 23(1):39–51.
- Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (Eds.). (2018). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw-Hill Education.
- Campbell, S. B. (1986). Developmental issues in childhood anxiety, *Anxiety disorders of childhood* (pp. 24-57). New York: Guilford Press
- Caraveo-Anduaga, J. J., & Colmenares, E. (2000). Prevalencia de los trastornos de ansiedad fóbica en la población adulta de la ciudad de México. *Salud mental*, 23(5), 10-19.
- Carlson, N. R. (2014). *Fisiología de la conducta*. Pearson Educación.
- Cassell, M. D., Gray, T. S., & Kiss, J. Z. (1986). Neuronal architecture in the rat central nucleus of the amygdala: a cytological, hodological, and immunocytochemical study. *Journal of Comparative Neurology*, 246(4), 478-499.
- Choudhary, P., Pacholko, A. G., Palaschuk, J., & Bekar, L. K. (2018). The locus coeruleus neurotoxin, DSP4, and/or a high sugar diet induce behavioral and biochemical alterations in wild-type mice consistent with Alzheimers related pathology. *Metabolic brain disease*, 33(5), 1563-1571.
- Ciccarelli, M., Sorriento, D., Coscioni, E., Iaccarino, G., & Santulli, G. (2017). Adrenergic receptors. en *Endocrinology of the Heart in Health and Disease* (pp. 285-315). Academic Press.

- Ćulić, M., Šaponjić, J., Janković, B., Udović, S., Popović, S., & Rakić, L. (1995). Effect of neurotoxin DSP4 on EEG power spectra in the rat acute model of epilepsy. *Neuroscience letters*, 196(1-2), 49-52.
- Daoust, M., Protais, P., & Ladure, P. (1990). Noradrenergic system: effect of DSP4 and FLA-57 on ethanol intake in ethanol preferring rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 36(1), 133-137.
- Davis, M. (1992). The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annual review of neuroscience*, 15(1), 353-375.
- Davis, M., y Whalen, P. J. (2001). The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular psychiatry*, 6(1), 13-34.
- De Boer, S. F., & Koolhaas, J. M. (2003). Defensive burying in rodents: ethology, neurobiology and psychopharmacology. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 145–161.
- De Freslon, I., Strapping, A., Soto-Gamboa, M., & Gallo, C. (2014). Caracterización de la reactividad conductual frente al manejo y su relación con el cortisol sanguíneo, contusiones y pH de la carne en novillos. *Archivos de medicina veterinaria*, 46(2), 229-237.
- De Leeuw, P. W., Kroon, A. A. (2018). Adrenergic Mechanisms, 425-431
- Dean, E. (2016). Anxiety. *Nursing Standard*, 30(46), 15–15.
- Divekar, A., Oswal, R. J., Bagul, Y. R., & Antre, R. V. (2011). The pharmacological evaluation of *Foeniculum vulgare* Miller for antianxiety. *Imperial J. Pharmacol Toxicol*, 1, 16-20.
- Fadok, J. P., Markovic, M., Tovote, P., & Lüthi, A. (2018). New perspectives on central amygdala function. *Current opinion in neurobiology*, 49, 141-147.

- Getachew, B., Hauser, S. R., Csoka, A. B., Taylor, R. E., & Tizabi, Y. (2017). Role of cortical alpha-2 adrenoceptors in alcohol withdrawal-induced depression and tricyclic antidepressants. *Drug and alcohol dependence*, 175, 133-139.
- Gavras, I., Manolis, A. J., y Gavras, H. (2001). The  $\alpha$ 2-adrenergic receptors in hypertension and heart failure: experimental and clinical studies. *Journal of hypertension*, 19(12), 2115-2124.
- Glass, M. J., Colago, E. E., & Pickel, V. M. (2002). Alpha-2A-adrenergic receptors are present on neurons in the central nucleus of the amygdala that project to the dorsal vagal complex in the rat. *Synapse*, 46(4), 258-268.
- Graham, R. M., Perez, D. M., Hwa, J., & Piascik, M. T. (1996).  $\alpha$ 1-Adrenergic receptor subtypes: molecular structure, function, and signaling. *Circulation research*, 78(5), 737-749.
- Hauser, J., Sontag, T. A., Tucha, O., & Lange, K. W. (2012). The effects of the neurotoxin DSP4 on spatial learning and memory in Wistar rats. *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, 4(2), 93–99.
- Hauser, J., Reissmann, A., Sontag, T. A., Tucha, O., & Lange, K. W. (2017). Effects of methylphenidate on attention in Wistar rats treated with the neurotoxin N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine (DSP4). *Journal of Neural Transmission*, 124(5), 643-654.
- Holmberg G, Gershon S. (1961). Autonomic and psychic effects of yohimbine hydrochloride. *Psychopharmacology*, 2:93–106.
- Hudson, B.B., (1950). One-trial learning in the domestic rat. *Gen. Psychol.* 41, 99-145.
- Janak, P. H., y Tye, K. M. (2015). From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature Rev. Neurosci.* 6, 151-159.
- Jänig, W. (2008). *Integrative action of the autonomic nervous system: Neurobiology of homeostasis*. Cambridge University Press.

- Jarvis, E. D. (2005). Avian brains and a new understanding of vertebrate brain evolution. *Nature Rev. Neurosci.* 6, 151–159.
- Jie, K., van Brummelen, P., Vermeij, P., Timmermans, P. B., & van Zwieten, P. A. (1984). Identification of vascular postsynaptic alpha 1-and alpha 2-adrenoceptors in man. *Circulation research*, 54(4), 447-452.
- Juruena, M. F., Eror, F., Cleare, A. J., & Young, A. H. (2020). The role of early life stress in HPA axis and anxiety. *Anxiety Disorders*, 141-153.
- Kable, J. W., Murrin, L. C., & Bylund, D. B. (2000). In vivo gene modification elucidates subtype-specific functions of  $\alpha$ 2-adrenergic receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 293(1), 1-7.
- Kalin, N. H., Shelton, S. E., & Davidson, R. J. (2004). The role of the central nucleus of the amygdala in mediating fear and anxiety in the primate. *Journal of Neuroscience*, 24(24), 5506-5515.
- Khoshbouei H, Cecchi M, Dove S, Javors M, Morilak DA (2002). Behavioral reactivity to stress: amplification of stress-induced noradrenergic activation elicits an unmediated anxiolytic effect in central amygdala. *Pharmacol Biochem Behav*; 71:407–17.
- Kumar, V., Bhat, Z. A., & Kumar, D. (2013). Animal models of anxiety: a comprehensive review. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 68(2), 175-183.
- Lakhlani, P. P., MacMillan, L. B., Guo, T. Z., McCool, B. A., Lovinger, D. M., Maze, M., & Limbird, L. E. (1997). Substitution of a mutant  $\alpha$ 2a-adrenergic receptor via “hit and run” gene targeting reveals the role of this subtype in sedative, analgesic, and anesthetic-sparing responses in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(18), 9950-9955.
- Lang W J, Gershon S. (1963). Effects of psychoactive drugs on yohimbine-induced responses in conscious dogs. A proposed screening procedure for anti-anxiety agents. *Arch Int Pharmacodyn Ther*; 142:457–72.

- Lang, E.J., y Paré, D., (1998). Synaptic responsiveness of interneurons of the cat lateral amygdaloid nucleus. *Neuroscience*, 83, 877–889.
- Langarita-Llorente, R., & Gracia-García, P. (2019). Neuropsicología del trastorno de ansiedad generalizada: revisión sistemática. *Rev. Neurol*, 69, 59-67.
- Lanuza, E., Belekhova, M., Martínez-Marcos, A., Font, C. & Martínez-García, F. (1998). Identification of the reptilian basolateral amygdala: an anatomical investigation of the afferents to the posterior dorsal ventricular ridge of the lizard, *Podarcis hispanica*. *Eur. J. Neurosci.* 10, 3517–3534.
- LeDoux, J. E. (2007). The amygdala. *Current biology*, 17(20), R868-R874.
- LeDoux, J. E. (2012). Rethinking the emotional brain. *Neuron*, 73. 653-673.
- Macarthur, H., Wilken, G. H., Westfall, T. C., & Kolo, L. L. (2011). Neuronal and non-neuronal modulation of sympathetic neurovascular transmission. *Acta Physiologica*, 203(1), 37-45.
- Mahoney, M. K., Barnes, J. H., Wiercigroch, D., & Olmstead, M. C. (2016). Pharmacological investigations of a yohimbine-impulsivity interaction in rats. *Behavioural pharmacology*, 27(7), 585–595.
- Marks, I. (1986). Tratamiento de neurosis. Barcelona: Martínez Roca.
- Maletic, V., Eramo, A., Gwin, K., Offord, S. J., & Duffy, R. A. (2017). The role of norepinephrine and its  $\alpha$ -adrenergic receptors in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder and schizophrenia: a systematic review. *Frontiers in psychiatry*, 8, 42
- Mefford, I. N. (1988). Epinephrine in mammalian brain. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 12:365-388.

- Mineur S. Y., Cahuzac L. E., Mose T. N., et al. (2018). Interaction between noradrenergic and cholinergic signaling in amygdala regulates anxiety- and depression-related behaviors in mice. *Neuropsychopharmacology*, 43:2118–2125
- Mumtaz, F., Khan, M. I., Zubair, M., & Dehpour, A. R. (2018). Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model—A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 1205-1222.
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *CIE-11. Trastornos Mentales y del Comportamiento. Undécima Revisión de la Clasificación Internacional de las Enfermedades. Descripciones Clínicas y pautas para el diagnóstico*. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- Organización Mundial de la Salud (2017). Día Mundial de la Salud Mental 2017  
Recuperado de: [https://www.who.int/mental\\_health/es/](https://www.who.int/mental_health/es/)
- Organización Mundial de la Salud (2020). Antidepresores (tricíclicos o inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina) en adolescentes que sufren un episodio depresivo o depresión. Recuperado de: [https://www.who.int/mental\\_health/mhgap/evidence/child/q11/es/](https://www.who.int/mental_health/mhgap/evidence/child/q11/es/).
- Orsini, C. y Maren, S. (2012). Neural and celular mechanism of fear and extinction memory formation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36, 1773-1802.
- Palomares-Castillo, E., Hernández-Pérez, O. R., Pérez-Carrera, D., Crespo-Ramírez, M., Fuxe, K., & 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.
- Papakostas, Y., Eftychiadis, A., Papakostas, G. & Christodoulou, G. N. (2003). A historical inquiry into the appropriateness of the term “panic disorder”. *History of Psychiatry*, 14(2), 195-204.

- Papini, M. (2009). *Psicología comparada. Evolución y desarrollo del comportamiento*. México: Manual Moderno, 448-560.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Acad. Press. Inc., San-Diego, USA.
- Pelissolo, A. (2019). Trastornos de ansiedad y fóbicos. *EMC-Tratado de Medicina*, 23(2), 1-8.
- Pérez de la Mora, M., Jacobsen, K. X., Crespo-Ramírez, M., Flores-Gracia, C., & Fuxe, K. (2008). Wiring and volume transmission in rat amygdala. Implications for fear and anxiety. *Neurochemical research*, 33(8), 1618-1633.
- Pérez 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.
- Phelps, E. A. y LeDoux J. E. (2005). Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron*, 48, 175-187.
- Pinel, J.P.J., Treit, D. (1978). Burying as a defensive response in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92, 708-712.
- Polanco, L. A., Vargas, C., & Góngora, I. M. E. (2011). Modelos animales: una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma psicológica*, 18(2), 99-110.
- Porter, E., & Chambless, D. L. (2015). A systematic review of predictors and moderators of improvement in cognitive-behavioral therapy for panic disorder and agoraphobia. *Clinical Psychology Review*, 42, 179-192.

- Prieto, M., & Giraltnote, M. T. (2001). Effects of N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine (DSP4) on alpha2-Adrenoceptors which Regulate the Synthesis and Release of Noradrenaline in the Rat Brain. *Pharmacology and Toxicology*, 88(3), 152–158
- Reyes, A. C. D., & López, J. V. S. (2019). Miedo, fobias y sus tratamientos. *Revista electrónica de psicología Iztacala*, 22(2), 798-833.
- Riekkinen Jr, P., Sirviö, J., Ekonsalo, T., & Riekkinen, P. (1992). Effects of noradrenergic DSP4 lesion on the effectiveness of pilocarpine in reversing scopolamine-induced amnesia. *Brain research bulletin*, 28(6), 919-922
- Rodrigues, S.M., Schafe, G.E., LeDoux, J.E. (2004). Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. *Neuron* 44, 75–91.
- Rodgers, R. J., Cao, B. J., Dalvi, A., & Holmes, A. (1997). Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian journal of medical and biological research*, 30, 289-304.
- Roelofs, K. (2017). Freeze for action: neurobiological mechanisms in animal and human freezing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1718), 20160206.
- Romero, E. E. R., Young, J., & Salado-Castillo, R. (2019). Fisiología del estrés y su integración al Sistema Nervioso y Endócrino. *Revista Médico Científica*, 32, 61-70.
- Ross, S. B., & Stenfors, C. (2015). DSP4, a selective neurotoxin for the locus coeruleus noradrenergic system. A review of its mode of action. *Neurotoxicity research*, 27(1), 15-30.
- Royer, S., Martina, M., Paré, D., 1999. An inhibitory interface gates impulse traffic between the input and output stations of the amygdala. *J. Neurosci.* 19, 10575–10583.

- Ruuskanen, J. O., Laurila, J., Xhaard, H., Rantanen, V. V., Vuoriluoto, K., Wurster, S. y Scheinin, M. (2005). Conserved structural, pharmacological and functional properties among the three human and five zebrafish  $\alpha$ 2-adrenoceptors. *British journal of pharmacology*, *144*(2), 165-177.
- Sanders, J. (2016). Developmental DSP4 effects on cortical Arc expression. *Neuroscience letters*, *618*, 89-93.
- Sarudiansky, M. (2013). Ansiedad, angustia y neurosis. Antecedentes conceptuales e históricos. *Psicología iberoamericana*, *21*(2), 19-28.
- Schmidt, K. T., y Weinshenker, D. (2014). Adrenaline rush: the role of adrenergic receptors in stimulant-induced behaviors. *Molecular pharmacology*, *85*(4), 640-650.
- Shekhar, A., McCann, U. D., & Meaney, M. J. (2001). Summary of a National Institute of Mental Health workshop: developing animal models of anxiety disorders. *Psychopharmacology*, *157*, 327–339.
- Secretaría de Salud (2015). ¿Qué es la Ansiedad?, México, Secretaría de salud.
- Sengupta, A., & Holmes, A. (2019). A discrete dorsal raphe to basal amygdala 5-HT circuit calibrates aversive memory. *Neuron*, *103*(3), 489-505.
- Swanson, L. W. y Petrovich, G. D. (1998). What is the Amygdala? *Trends in Neurosciences*, *21* (8), pp.323-331.
- Tafet, G. E., & Nemeroff, C. B. (2020). Pharmacological treatment of anxiety disorders: the role of the HPA axis. *Frontiers in psychiatry*, *11*, 443.
- Takahashi, L. K., (2014). Olfactory systems and neural circuits that modulate predator odor fear. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*, pp.1-13.

- Takahashi, L. K., (2005). The smell of danger: a behavioral and neural analysis of predator odor induced fear. *Neuroscience and Biobehavioral reviews*, 29 (8), pp. 1157-1167.
- Thyer, B. A. (1987). Treating anxiety disorders: A guide for human service professionals. London: Sage Publications.
- Tsuda, A., Yoshishige, I., Tanaka, M. (1988). Behavioral field analysis in two strains of rats in a conditioned defensive burying paradigm. *Anim. Learn. Behav.* 16, 354– 358.
- Uys, M. M., Shahid, M., & Harvey, B. H. (2017). Therapeutic potential of selectively targeting the  $\alpha$ 2C-adrenoceptor in cognition, depression, and schizophrenia—new developments and future perspective. *Frontiers in psychiatry*, 8, 144.
- Vargas, J. T. (2000). La Noradrenalina. Su rol en la depresión. *Revista colombiana de psiquiatría*, 29(1), 59-73.
- Wu, Z., Wang, T., Li, L., Hui, Y., Zhang, Q., & Yuan, H. (2019). Activation and blockade of  $\alpha$ 2-adrenoceptors in the prelimbic cortex regulate anxiety-like behaviors in hemiparkinsonian rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 519(4), 697–704.
- Ye, L., & Lippmann, S. (2018). Reduction of anxiety after treatment with transdermal clonidine. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, 75(11), 742– 744.
- Yeung, M., Lu, L., Hughes, A. M., Treit, D., & Dickson, C. T. (2013). FG7142, yohimbine, and  $\beta$ CCE produce anxiogenic-like effects in the elevated plus-maze but do not affect brainstem activated hippocampal theta. *Neuropharmacology*, 75, 47-52.
- Zhang, K., Lin, W., Zhang, J., Zhao, Y., Wang, X., & Zhao, M. (2020). Effect of Toll-like receptor 4 on depressive-like behaviors induced by chronic social defeat stress. *Brain and behavior*, 10(3).

*“Es la víspera  
el crujir del fuego  
la última noche del invierno”*