



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

El efecto del triptofol en la ansiedad de ratas de alto
bostezo (HY) y bajo bostezo (LY).

Tesis que para obtener el título de
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:
Jesús López Castillo

DIRECTORA: Dra. Ma. Del Carmen Cortés Sánchez
CO-DIRECTORA: Dra. Angélica Trujillo Hernández

Septiembre 2020



Agradecimientos.

Este proyecto de tesis fue realizado en el Laboratorio de Neurofisiología y Control Motor del Instituto de Ciencias Fisiológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Agradecimientos.

Agradezco de manera sincera y energética a la Dra. Ma. Del Carmen Cortés Sánchez asesora de la presente tesis, por permitirme realizar mi trabajo de tesis bajo su dirección, brindandome su conocimiento, consejos, opinión, correcciones y apoyo a lo largo de la realización de este proyecto.

A la Dra. Angélica Trujillo Hernández por ser co-asesora de la presente tesis.

Al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca, quién contribuyó de forma importante y activa con su conocimiento, opinión y observaciones que enriquecieron enormemente en el desarrollo de la presente tesis.

Agradecimientos.

A los integrantes del laboratorio.

A la M.C Lilia Diaz por instruirme en el uso del LCE, el programa The observer XT, del manejo y administración de los animales, además de ser un ejemplo admirable de trabajo en el laboratorio, así como en su apoyo en la toma de muestras junto con la Lic. Adriela Fierro.

Al M.C Juan Carlos Ibarra, por su apoyo en la administración y eutanasia de varios animales.

A la M.C Araceli Uguarte por su apoyo en el manejo de reactivos, permitirme generar un medio de comunicación con el laboratorio, así como intruirme en el proceso de observación de bostezo de los animales.

Al M.V.Z Omar Isidro Maldonado, quien se encargó del manejo y cuidado de los animales y me brindo su apoyo en la eutanasia de muchos de ellos.

A Juan Carlos Ahumada, Karely Espinoza, Adriana Bravo, Salvador, Alfonso y Gabriela Ibarra quienes me brindaron una grata convivencia en el laboratorio, e hicieron muy agradable el trabajo en el laboratorio.

Agradecimientos

A mis amigos de licenciatura, Ram Gonzales, Eric Navarro, Jael Flores, Oswaldo Sánchez, Alejandra Fuentes, Judith Ballesteros, Rafael López, Mariana Leal y Alessandra Erosa por brindarme su sincera amistad y acompañarme en esta etapa tan importante, alegrando mi vida dentro y fuera de las aulas, a quienes les debo un sin fin de gratas experiencias, risas y consejos.

A todos los profesores que han formado parte de mi formación hasta este momento.

A mi hermana Aimeé, por su apoyo y compañía en los momentos más difíciles.

A mis padres Jaime y Laura a quienes les debo todo lo que soy, y que con su esfuerzo y dedicación me criaron y guiaron permitiendome realizar mis sueños y llenando mi vida de enseñanzas y amor.

índice

1.Resumen.....	7
2. Introducción.....	9
2.1Trastornos de ansiedad.....	12
2.2 Factores de riesgo para el desarrollo de TDAs.....	14
2.2.1Factores genéticos.....	14
2.2.2 Factores ambientales.....	16
2.3 Regiones y circuitos neuronales involucrados en la ansiedad.....	18
2.4 Neuroquímica y farmacología de la ansiedad.....	23
2.5 Modelos en el estudio de la ansiedad.....	28
2.5.1 Modelos Animales.....	28
2.5.3 Estudio de la ansiedad en modelos humanos.....	33
3.Antecedentes.....	34
3.1 Sublíneas de alto y bajo bostezo.....	34
3.2 Triptofol.....	36
4.Justificación.....	37
5.Hipótesis.....	38
6.Objetivos.....	38
6.1 objetivo general.....	38
6.2 Objetivos particulares.....	38
7.Metodología.....	39
7.1Animales.....	39
7.2Fármacos.....	39

7.3	Procedimiento.....	40
7.4	Observación de bostezo.....	41
7.5	Laberinto en cruz elevado.....	41
7.6	ROTAROD.....	43
7.7	Tratamiento estadístico.....	44
8.	Resultados	44
8.1	Determinación del efecto del triptofol en la ansiedad de las ratas HY, LY y SD en el LCE.....	44
8.2	Efecto del triptofol en la actividad motora de las ratas HY, LY y la cepa SD en el ROTAROD.....	55
8.3	Comparativa de los efectos del triptofol y el 8-OH-DPAT en la ansiedad de ratas HY, LY y SD en el LC.E.	61
9.	Discusión	71
10.	Conclusiones	76
11.	Referencias	77
12.	Anexos	88
12.1	Lista de Abreviaturas.....	88

1. Resumen

La ansiedad es una respuesta natural propia de los animales y forma parte de procesos de adaptación a un estímulo, ya sea definido o no, que conlleva una serie de cambios fisiológicos y conductuales con el fin de buscar la supervivencia; sin embargo, un mal proceso de adaptación o la falta de un proceso de extinción del estado de ansiedad, puede llevar al desarrollo de un trastorno de ansiedad, mermando la calidad de vida de los individuos. La ansiedad como patología, tiene alta prevalencia tanto en el contexto mundial como en el caso particular de México, si bien se han descrito muchas variables fisiológicas asociadas a la ansiedad, existe todavía un inmenso abanico de líneas de investigación que abordan esta problemática y buscan vislumbrar con mayor profundidad los mecanismos biológicos, epigenéticos y farmacológicos operantes en el desarrollo y progresión de los trastornos de ansiedad.

Si bien en la actualidad existen diversas alternativas de tratamiento farmacológico a emplearse en los trastornos de ansiedad, no todos los medicamentos existentes son eficaces para los diferentes trastornos existentes, además de presentar diversos efectos no deseados, y en casos particulares resultan poco efectivos en algunos pacientes; siendo así imperativa la búsqueda de nuevos fármacos que permitan tanto el estudio de la ansiedad, como el desarrollo de nuevos tratamientos a futuro.

Se sabe que la administración de agonistas parciales al receptor 5-HT_{1A}, tiene efectos ansiolíticos, sin embargo en su mayoría poseen una pequeña ventana entre las dosis que cumplen con los efectos deseados y aquellas que presentan efectos secundarios significativos; por lo tanto los agonistas parciales al mismo receptor se perfilan como alternativas más atractivas, teniendo la capacidad de obtener los efectos deseados sin presentar los mismos efectos secundarios, dentro de una ventana más amplia.

El triptofol es un compuesto que se produce de forma endógena en el cerebro humano, como parte del metabolismo de la serotonina, además de presentarse de

manera natural en la fermentación alcohólica, y al actuar como un agonista parcial del receptor 5-HT_{1A}, se perfila como candidato a ser un compuesto ansiolítico.

Al tratarse de un compuesto poco estudiado dentro del campo de la neurofisiología, resulta atractivo el estudio experimental de sus efectos sobre la ansiedad en modelos animales, a través de la observación de su conducta. Las ratas de alto bostezo (high yawning por sus siglas en inglés) y LY (low yawning por sus siglas en inglés), han demostrado presentar diferencias fenotípicas significativas, tanto a nivel fisiológico como conductual; además de que en trabajos anteriores se ha demostrado que presentan características adecuadas para el estudio del efecto de fármacos sobre la reactividad emocional; al caracterizar a las HY como individuos más resilientes y las LY como individuos más ansiosos en las pruebas de campo abierto y caja luz oscuridad; permiten el estudio a la par de los efectos farmacológicos en ambos casos, permitiendo un desarrollo experimental que lleva a explorar también las diferencias fisiológicas entre los dos fenotipos. Al tratarse de animales con mutaciones plurigénicas otorgan la ventaja de ofrecer una aproximación más cercana a lo ocurrido en los seres humanos, que los modelos con mutaciones monogénicas.

El laberinto en cruz elevado (LCE) es la prueba más empleada en modelos murinos para el estudio del efecto farmacológico de diferentes compuestos sobre la ansiedad, ofreciendo la ventaja de ser una prueba rápida, que no requiere de elementos externos y que además cumple con los principios de validez requeridos para cualquier modelo de estudio animal; al emplearla junto con la prueba de rotarod es posible obtener una primer aproximación de los efectos del triptofol sobre la ansiedad y el desempeño motor de las ratas HY y LY.

En la prueba de LCE, las ratas de la cepa SD resultaron presentar una conducta más ansiosa que las ratas de las sublíneas LY y HY, al recibir el tratamiento las ratas SD únicamente tuvieron diferencias significativas en su conducta con el tratamiento de TrpOH a una dosis de 200 mg/Kg, por su parte las ratas HY y LY se mostraron más sensibles a ambos tratamientos, TrpOH y 8-OHDPAT, de modo que el tratamiento con 100 mg/Kg causó un decremento en la ejecución de conductas ansiosas, como la estancia y entradas a los brazos cerrados, sin embargo en el

caso de las ratas HY tuvieron un decremento en el efecto ansiolítico en la dosis de 200 mg/Kg, y las ratas LY no presentaron diferencias significativas en su conducta, entre las dosis más altas.

Al comparar ambos tratamientos se apreció que el tratamiento con TrpOH, tiene un efecto ansiolítico similar o mejor que el 8-OH-DPAT, administrándose la dosis de 100 mg/Kg, sin generar síndrome serotoninérgico. Tras realizarse las pruebas se concluye que el triptofol tiene un efecto ansiolítico, y a pesar de requerirse grandes dosis, no parece generar efectos secundarios sobre la conducta motora ni síndrome serotoninérgico, a las dosis empleadas, teniendo un efecto prolongado gracias a su mayor tiempo de vida comparado con otros fármacos serotoninérgicos, ya que dichos efectos se aprecian inclusive 16h después de su administración aguda.

Las ratas de las sublíneas LY y HY, presentan una respuesta diferente a las ratas SD al tratamiento con fármacos serotoninérgicos agonistas del receptor 5-HT_{1A}, los resultados muestran que la sublínea LY responde de manera favorable al tratamiento de ansiolíticos agonistas del receptor 5-HT_{1A}, mientras que la ventana de efectividad de dichos fármacos se muestra de forma distinta en las ratas HY, ya que únicamente a la dosis de 100 mg/Kg se obtuvo un efecto ansiolítico significativo, y por su parte el tratamiento con 8-OH-DPAT generó un efecto ansiogénico en estas ratas; por lo que se presume que por lo menos la expresión de este receptor se da de forma distinta en cada sublínea.

2. Introducción

La ansiedad se define como una respuesta de carácter emocional a un estímulo interno, externo, o indefinido, caracterizado por sentimientos de tensión y pensamientos de preocupación en el caso de los seres humanos (American Psychological Association., 2017); tratándose de un proceso fisiológico natural, como parte de los mecanismos normales para el mantenimiento de la homeostasis, que ayuda a los organismos a adaptarse a los posibles cambios ambientales o afrontar situaciones de riesgo, que junto al miedo forma parte de los mecanismos de respuesta al estrés, por medio de la activación de cascadas hormonales y otras

respuestas fisiológicas; y que incluso juega un papel importante en la consolidación de la memoria y procesos de aprendizaje (Lisieski y cols; 2018). Un ejemplo se da en el avistamiento de un depredador, la información captada por el sistema sensorial es procesada a través del tálamo, hacia la amígdala de donde se estimula al hipotálamo para iniciar la cascada hormonal de respuesta al estrés, generando cambios fisiológicos que preparan al organismo para afrontar la situación, dando como resultado la respuesta de lucha o huida (Bondarenko y cols., 2016). Sin embargo, la ansiedad puede convertirse en la respuesta afectiva dominante y desarrollarse como una patología, generando intolerancia a situaciones estresantes y reacciones exacerbadas, e incluso presentándose de manera ambigua (silverman y cols., 2019), si bien el estrés, la ansiedad y el miedo son términos altamente relacionados, el estrés se refiere a un estado fisiológico producto de la exposición con un estímulo, el miedo por su parte es la motivación asociada a una serie de conductas en respuesta un estímulo definido, y por su parte la ansiedad no siempre se encuentra asociada a un estímulo, en ocasiones su origen es difuso o resultado de la anticipación a dichos estímulos externos, y no siempre tiene una respuesta fisiológica definida; de modo que, el miedo y la ansiedad pueden formar parte de los mecanismos de respuesta al estrés, el miedo y la ansiedad a su vez constituyen un componente de un potencial estresor (Blanchard y cols ., 2008 p.3;455) .

En el siglo XX se acuñó el término estrés, en el síndrome de adaptación general (SAG); Hans Selye lo describe como un proceso estereotipado en diversas patologías, con sus experimentos Selye expuso a ratas a diferentes condiciones y agentes nocivos, que en la actualidad describimos como estresores, y observó signos similares independientemente del estresor al que el animal era expuesto, describiendo tres etapas. La etapa de alarma, donde ante la exposición el animal reacciona al estímulo presentado generando cambios definidos de hipertrofia e hiperactividad de la corteza suprarrenal, involución del timo e hipersecreción de corticotrofina y tirotrófina; la segunda etapa corresponde a la etapa de resistencia en donde si el estímulo nocivo persiste el organismo regresa a sus funciones normales; y al persistir con el agente dañino por más tiempo, de uno a tres meses, llega la etapa de agotamiento culminando con la muerte (Selye., 1936). A partir de

esta descripción surge el concepto de estrés en donde al exponerse un organismo a un estresor se realizan una serie de cambios fisiológicos con el fin de sobrevivir ante dicho estímulo.

Walter Langdon Brown (1933)., ya había mencionado que estos desordenes se originaban ante un fallo en el intento de los sistemas neuronales en adaptarse al entorno; de igual forma en E.U.A, William S Sadler, atribuía como agente causal de los males mentales a la tensión ocasionada por la ajetreada “vida Americana”(American nervous), un mal al que se le recetaba “la cura de reposo” (Jackson., 2013). Tras los resultados de Seyle se popularizó la idea de que la relación entre los estresores y las respuestas fisiológicas que estos generaban, eran la clave para comprender la evolución de muchos desordenes mentales.

La ansiedad patológica puede expresarse de muchas formas, y se diferencia principalmente de una respuesta normal ante un estímulo aversivo considerando principalmente tres factores, el grado de reactividad del individuo ante la exposición a un estresor, tener un origen puntual, o si se percibe como peligroso un estímulo neutro o inexistente, y fisiológicamente, mediante una mala regulación del sistema límbico, niveles hormonales y de neurotransmisores (Blanchard y cols ., 2008 p.456). Se ha descrito que, en la ansiedad patológica, se presenta una actividad anormal en estructuras tales como la VTA, el área paraventricular hipotalámica, y la amígdala (Blanchard y cols ., 2008 p.457).

Dentro de los trastornos mentales los trastornos de ansiedad ocupan el segundo lugar como los más recurrentes; de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud a nivel mundial se tiene un estimado de 24.6 millones de pacientes diagnosticados con algún trastorno de ansiedad (Organización Mundial de la Salud., 2017), en México de acuerdo con datos de la última encuesta nacional de epidemiología psiquiátrica, el 28.6% de la población adulta padecerá algún trastorno mental en su vida, y el 18% de la población mexicana de entre 18 y 64 años sufre de algún desorden mental como la ansiedad o depresión o alguna fobia (Oficina de Información Científica y Tecnológica para el congreso de la unión., 2018). Existe una correlación entre ambos padecimientos, ansiedad y depresión, tratándose de

patologías capaces de generar eventos de retroalimentación, el 60% de los pacientes con depresión padecen además algún trastorno de ansiedad (Kandel, Schwartz y Jessel.,2000 p.1209).

2.1 Trastornos de ansiedad.

En la actualidad se reconocen varios trastornos de ansiedad, el DMS-V clasifica el desorden de pánico (PD), la agorafobia, el trastorno de ansiedad generalizada (TAG), ansiedad social y las fobias específicas como parte de los trastornos de ansiedad, sin embargo existen otros trastornos relacionados con la ansiedad que el DMS-V incluye en otros capítulos; los desordenes causados por traumas, como el trastorno de estrés post traumático; y los desordenes a causa de obsesión y el trastorno obsesivo compulsivo (American Psychiatric Association, 2013) . En su mayoría estos trastornos comparten varios signos; hiperactividad e irritabilidad, interrupción del ciclo normal del sueño, alteraciones del estado de humor, de las capacidades cognitivas, desbalance hormonal y estados de hiper-alerta,(Huang y cols., 2017), aunado a ello pueden distinguirse otras manifestaciones objetivas como un aumento en el ritmo cardiaco, sudoración, malestar estomacal y boca seca, además de que algunas personas presentan respuestas subjetivas intensas, como la sensación de estar muriendo, o falta de oxígeno por hiperventilación (Kandel, Schwartz y Jessel.,2000 p.1215). Los trastornos de ansiedad se diferencian entre si principalmente por la causa específica de la ansiedad, además de que cada trastorno viene acompañado de signos y síntomas particulares, además existen diferencias en la fisiopatología de cada uno, y por tanto no todos los TDAs tienen el mismo tratamiento clínico y psicológico; incluso en ocasiones un individuo puede desarrollar más de un trastorno de ansiedad al mismo tiempo, por ejemplo, es recurrente que personas con PD desarrollen agorafobia por el temor de experimentar un ataque de pánico en lugares públicos (Cui y cols., 2019) .

Los TDA son patologías que deterioran la calidad de vida, afectando los procesos cognitivos y en consiguiente el desempeño y la vida personal de quienes la padecen, de entre todas las enfermedades crónicas, los trastornos de ansiedad y depresión son los que generan mayor pérdida en productividad, los trabajadores

con alguno de estos trastornos tienden a ausentarse más en el trabajo y generan menor productividad que los trabajadores sanos (Plaisier y cols., 2010); de manera que los trastornos de ansiedad y depresión generan grandes pérdidas económicas, solo en Europa este tipo de trastornos generan un gasto de 118 mil millones de euros al año, de los cuales el 64% corresponden a pérdidas en la productividad (Ivandić y cols., 2017).

El TAG es uno de los trastornos de ansiedad más frecuentes; en particular el TAG se caracteriza por una persistente, irreal e incontrolable preocupación por una gran variedad de tópicos, además de que los individuos tienen una tendencia por poseer poco control sobre el miedo y problemas de concentración, como síntomas particulares (Wise y cols., 2020).

La ansiedad social se caracteriza por presentar una preocupación exagerada al afrontar interacciones sociales, generando signos como sudoración o hiperventilación, dificultad para expresarse e interactuar con otras personas, inclusive llegando a reducir las interacciones sociales al mínimo necesario; este trastorno particularmente afecta las relaciones interpersonales y la capacidad de comunicación y expresión en público de quien la padece (Karasewich y Kuhlmeier., 2020). Las fobias específicas por su parte se caracterizan por un miedo irracional y ansiedad, a causa de un estímulo en específico, inclusive sin presentarse físicamente, en algunos casos pacientes aracnofobia han presentado ansiedad ante la exposición a imágenes y estímulos alusivos a las arañas, sin presentarse el estímulo directamente (Keyes y cols., 2020).

En el caso del TEPT su característica principal es que surge tras vivir un evento o serie de eventos altamente aversivos, trauma, ya sea de forma directa o indirecta, dando como resultado además de los signos típicos de los trastornos de ansiedad, recuerdos intrusivos del evento traumático, culpa y la evasión de situaciones que recuerden el evento traumático; si los síntomas persisten. Los grupos vulnerables ante el TEPT suelen ser víctimas de asaltos, violaciones, veteranos de guerra,

refugiados e incluso en algunos casos personas estrechamente relacionadas con la víctima del evento traumático (Lisieski y cols. , 2018).

El trastorno obsesivo compulsivo (TOC), se caracterizó por pensamientos intrusivos, obsesivos y rituales relacionados con el fin de atenuar el estrés (American Psychiatric Association, 2013), afectando alrededor del 2% de la población, y se cuenta como un factor de riesgo para cometer suicidio en pacientes con depresión (Brown y cols., 2018).

2.2 Factores de riesgo para el desarrollo de TDAs.

2.2.1 Factores genéticos

La conducta es el conjunto de acciones y gestos que realiza un organismo para adaptarse a cambios en el entorno, y como respuesta a cambios fisiológicos, producto del crecimiento y desarrollo del individuo (Carlson ., 2006). Como tal la conducta es resultado de mensajes químicos, producto de la interacción con el entorno, y el procesamiento de la información recibida, dando como resultado a la toma de decisiones, la memoria, el aprendizaje adquirido y de la expresión genética en un momento dado (Real .,1994 p.1-3), por tanto, se ve influenciada en gran medida por la información genética que porta cada organismo; partiendo de dicha premisa, cambios en la secuencia de ADN y su expresión pueden influir directamente en la conducta. El caso de la ansiedad y la respuesta al estrés no es una excepción, por medio de metanálisis se ha demostrado la existencia de polimorfismos relacionados con un fenotipo ansioso, con el desarrollo de TDAs y otros desordenes mentales (Gottschalk., 2017), además de que estos factores genéticos se ven correlacionados también con la intensidad con la que se manifiestan los síntomas y signos de la ansiedad, además de que influyen en la respuesta que puede presentarse ante el tratamiento farmacológico (Mcgowan., 2019) .

Uno de los candidatos que ha cobrado mayor relevancia es el sistema serotoninérgico, a través del estudio de la variabilidad genética, se ha demostrado que cambios discretos en la secuencia de ADN pueden afectar la neurotransmisión

serotoninérgica (Mcgowan., 2019); uno de los genes más estudiados es el correspondiente al transportador de serotonina (SERT), el gen SLC6A4 o 5HTT, en el que se ha identificado un polimorfismo de alta frecuencia alélica que corresponde a una delección en la secuencia de su promotor (5-HTTRLP), este cambio afecta la expresión y por lo tanto la actividad del transportador SERT, generando una deficiencia en el transporte de serotonina (Mcgowan., 2019). Dicho polimorfismo se ha identificado con gran prevalencia en pacientes con TAG (You y cols., 2005), además de que se ha señalado como un factor en la baja respuesta al tratamiento con inhibidores de la recaptura de serotonina, a pesar de que los resultados han sido mixtos. (Lenze y cols., 2010); .

Del mismo modo se han investigado diversos polimorfismos del gen del autoreceptor 5-HT1A , y su posible relación con la predisposición a padecer ansiedad (Mcgowan., 2019), específicamente en la región promotora se han identificado muchos polimorfismos que afectan la actividad de este autoreceptor, el polimorfismo cercano a la región -1019C/G (rs6295) caracterizado por tener correlación con el desarrollo de depresión, se ha demostrado que afecta la función del receptor 5-HT1A específicamente en su sitio de unión (Lemondé y cols ., 2003). Otra de las regiones más estudiadas corresponde al alelo G, que se ha demostrado disminuye la expresión del 5-HT1A en la región post-sináptica, además de reportarse su correlación con el padecimiento de neurotismo y ataques de pánico (Strobel y cols., 2003).

El sistema serotoninérgico no es el único en el cuál se han identificado polimorfismos asociados con el desarrollo de ansiedad patológica, se ha demostrado que en el caso de los neuropéptidos, existe una amplia gama de variantes genómicas asociadas con la susceptibilidad de desarrollar un TDA, por ejemplo se sabe que la disminución de ARNm del factor neurotrófico del cerebro (BNDF) con el desarrollo de TAG (Gottschalk., 2017), estudios en roedores han demostrado que la exposición a estresores como la restricción de movimiento, choques eléctricos, confrontamiento social, nado forzado y la privación maternal reduce la expresión del BDNF en el hipocampo (Tanis y cols., 2007), además de reportar una disminución en su concentración en pacientes TEPT (Mcgowan.,

2019), evidencias que llevaron a la búsqueda de polimorfismos asociados a este péptido, demostrándose la existencia de cambios en la secuencia del promotor, se a identificado al polimorfismo rs6265, con una alta incidencia de preocupación y conductas anticipatorias características de los TDA (Gottschalk., 2017). Del mismo modo Kennedy y colaboradores (1999), identificaron un polimorfismo presente en el gen que codifica para el receptor CCK-B de la cistoquinina, asociado al desarrollo de DP, del mismo modo pacientes con este desorden han reportado un decremento en los niveles de este péptido.

En lo que al eje HPA respecta , se ha demostrado que el tratamiento con antidepresivos reduce la tasa de expresión del receptor CRH1, un receptor de gran importancia en la regulación de todo el eje; estudios en población Mexicana ha encontrado una asociación entre los SNPs rs1876828, rs242939 y rs242941 con una deficiente respuesta al tratamiento con fluxetina, sin embargo estos polimorfismos se encuentran en pacientes que presentan ambas patologías ansiedad y depresión (Licinio y cols., 2004).

2.2.2 Factores ambientales

La ansiedad suele estar estrechamente relacionada a la exposición a estresores, en especial de forma crónica, pueden conducir al desarrollo de un trastorno de ansiedad. De modo que la vivencia de eventos traumáticos y estrés continuo forman parte de los factores que contribuyen al desarrollo de un TDA, como ocurre en el caso del TEPT.

Factores como el nivel socioeconómico, las relaciones interpersonales, la ubicación geográfica, el entorno familiar, la edad y el género de las personas entre otros factores, pueden influir de forma positiva o negativa en la aparición de los TDAs, además de repercutir en el proceso de recuperación (Calrson.,2006, p. 607), ya que determinan los estímulos a los que un sujeto se verá expuesto.

A partir del siglo XIX , se profundizó de la relacion entre las experiencias de vida y el desarrollo de enfermedades como la depresión y los TDA, de acuerdo con Finlay-

Jones and Brown (1981)., las experiencias relacionadas con la violencia y el daño se relacionan con la aparición tanto con depresión como ansiedad.

La infancia es un periodo crítico en el desarrollo de muchos animales, en el caso de los seres humanos y otros mamíferos, afecta directamente en su desempeño cognitivo como adultos. Se sabe que roedores expuestos a estresores a temprana edad, como cambios de temperatura bruscos o la exposición a sonidos intensos, contribuyen al desarrollo de la conducta de desesperanza y una memoria deficiente, además de presentar una conducta más ansiosa en pruebas de ansiedad que los sujetos control (Campos y cols., 2013). El caso de los seres humanos no es diferente; Raskin y cols (1982)., señalan que aquellos pacientes con desorden de pánico y ansiedad generalizada, suelen haber experimentado infancias con negligencia paternal y abuso.

En el desarrollo de los TDAs; se han señalado las repercusiones que tiene una infancia reprimida a través de un control exacerbado por parte de los padres en las conductas, actividades y rutinas de sus hijos, o bien por el contrario la falta de atención y de un ambiente enriquecido; teniendo una mayor tendencia al desarrollo de trastornos, como la ansiedad social o el TOC al llegar a una edad adulta. De igual forma se ha reportado que en otros mamíferos como la rata la conducta materna tiene un impacto directo en la respuesta al estrés, de los individuos adultos donde una conducta materna sobrecogedora o deficiente lleva al desarrollo de organismos menos resilientes (Cui y cols., 2019). Por su parte durante la vida adulta se ha visto que pacientes con trastorno de pánico, experimentaron un aumento en la cantidad de estresores a los que se vieron expuestos previo al desarrollo del trastorno (Faravelli y cols.,1985); del mismo modo en un metanálisis se comprobó un aumento en la actividad del eje HPA en personas expuestas a un ambiente fuera de su control (Dickerson y Kemeny, 2004).

Con respecto a la dieta, través del estudio de la importancia de la serotonina en el desarrollo de la ansiedad, se señalado que en algunos casos un incremento en la ingesta del aminoácido triptófano, se obtiene mejora en pacientes que padecen de

ansiedad patológica, siempre y cuando esta se vea condicionada por un déficit en las concentraciones de dicho aminoácido, dando como un resultado una disminución en la concentración de serotonina de forma general (Green y cols., 2006).

Si bien la ansiedad producto de las adicciones no entran en la clasificación del DSM-V, entre los TDAs, el síndrome de abstinencia y el consumo de algunas sustancias adictivas producen ansiedad, y son factores que pueden contribuir al desarrollo de los desordenes mentales; uno de los ejemplos más clásicos es el alcoholismo, que si bien el etanol tiene propiedades ansiolíticas a través de su acción a receptores GABAa, en ciertas concentraciones y de forma crónica ha demostrado tener efectos ansiogénicos; por su parte el estudio del síndrome de abstinencia con el consumo de drogas como la cocaína, han demostrado un aumento en la aparición de conductas ansiosas, ratas sometidas a un proceso de abstinencia a la cocaína, presentan mayor tiempo de permanencia en los brazos cerrados del LCE, menor tiempo de estancia en el centro de la arena en la prueba de campo abierto y mayor tiempo de enterramiento del electrodo en la prueba de enterramiento defensivo (Buffalari y cols., 2012)

Los factores que desembocan en la aparición de los trastornos de ansiedad no siempre son del todo claros, si bien la exposición continua a estresores y la vivencia de eventos traumáticos forman parte de los agentes causales que desembocan en un estado de ansiedad crónica, existen casos en los cuales es difícil identificar los detonantes de la fisiopatología (Silverman y cols., 2019).

2.3 Regiones y circuitos neuronales involucrados en la ansiedad.

Resultado de años de investigación científica, en la actualidad se describen regiones cerebrales discretas como las más destacadas a jugar un papel en el desarrollo de la ansiedad; al tratarse de una respuesta de carácter emocional se ven involucradas estructuras del sistema límbico; el responsable de la respuesta

emocional por excelencia; el sistema endócrino, teniendo una respuesta hormonal característica de la ansiedad, y el sistema nervioso periférico.

El hipocampo (HC), la amígdala (AM) y la corteza prefrontal (CP), son las principales regiones responsables de la respuesta y el aprendizaje ante el miedo; como tal juegan un rol importante en el estado de ansiedad. Del mismo modo el eje hipotalámico-pituitaria-adrenal (HPA) y el sistema noradrenérgico central y periférico se ven alterados en los TDAs, al ser un eje clave de la respuesta al estrés.

El hipocampo es una estructura subcortical, altamente involucrada en procesos de aprendizaje y memoria, además de permitir la integración de información contextual para regular la conducta, específicamente el HC participa en la respuesta ante objetos y ambientes novedosos, así como a cambios en el entorno (Fanselow y Dong., 2010). Se ha demostrado que personas que han sufrido de estados prolongados de ansiedad presentan un decremento en el tamaño del HC, y por el contrario se ha observado un aumento en su tamaño en personas que han respondido adecuadamente al tratamiento, lo que sugiere que existe una correlación entre el manejo de la ansiedad y el tamaño del HC (Lisieski Y cols., 2018), además de que se ha demostrado que el tratamiento con medicamentos que actúan sobre los receptores 5-HT_{1A} promueve la neurogénesis en el HC (Huang., 2017). De igual forma una concentración elevada de hormonas de estrés como la norepinefrina, está asociada con una disfunción del HC en roedores y seres humanos (Fanselow y Dong., 2010).

El HC interactúa con otras regiones relacionadas con la respuesta al estrés, regulando la actividad del HPA, además de tener interacciones con la CP y la AM, llevando a la consolidación de memorias relacionadas con el miedo y en la regulación de la excitación emocional. Debido a su relación directa con la adenohipófisis, además de sus conexiones neuroendocrinas con la neurohipófisis, el hipotálamo se ve estrechamente involucrado en muchas funciones dependientes de cascadas hormonales, tal como la termorregulación, el apetito, la conducta sexual, el crecimiento, la liberación de cortisol (COT) , la regulación de la lactancia, el sistema de recompensa y la respuesta al estrés (Lisieski Y cols., 2018).

La actividad del HPA regula la cascada hormonal durante la respuesta al estrés, la información sensorial llega al tálamo, y sigue su curso hacia la amígdala basolateral donde se procesa y pasa a la amígdala central, esta tiene proyecciones al hipotálamo, el cual se encarga de la liberación de la hormona corticotrofina (CTR), en la región paraventricular hipotalámica (PVN) desencadenando la liberación de adrenocorticotrofina (ACTH), por parte de las células pituitarias de la hipófisis, que a su vez estimula a la corteza adrenal para la liberación de COT, a torrente sanguíneo desde donde se distribuye a diferentes tejidos (Lisieski y cols., 2018).

La secreción de glucocorticoides es un proceso altamente regulado, en el cuál ante una concentración exacerbada de COT se genera una respuesta de retroalimentación negativa, tanto en la glándula adrenal como en regiones neuronales, que reprime al eje, permitiendo llevar la concentración de glucocorticoides a niveles basales de manera muy rápida, 5-10 min (Blanchard y cols ., 2008 p.457). Si bien la actividad del eje HPA suele verse relacionada con la respuesta al estrés, también participa en los procesos de regulación circadiana, y se expresa ante actividad física demandante, ante una infección o un estado de hipoglicemia (Blanchard y cols ., 2008 p.457).

En modelos experimentales como lo son la rata y el ratón se encuentra bien caracterizada la participación del eje HPA por medio de la excreción de CRH en pruebas de ansiedad (Campos y cols., 2013), sin embargo, en el caso de los seres humanos, se han reportado resultados variables especialmente tratándose de estresores psicológicos (Hellhammer y Wade, 1993), los ambientes novedosos o la expresión de ansiedad a interacciones sociales por su parte, se muestran más persistentes en la activación del eje HPA, reportándose que ambientes en los que los sujetos carecen del control de las situaciones, y se ven expuestos a la evaluación de otras personas, detonan la secreción de CRH (Mason, 1968., Dickerson y Kemeny, 2004).

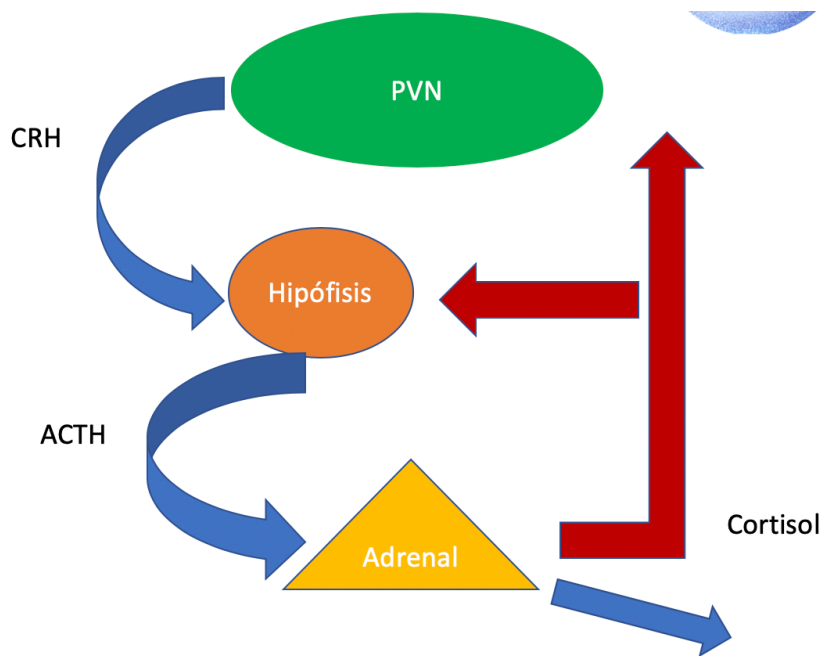


Fig 1. Eje HPA. El PVN, estimula a la hipófisis a través de la liberación de CRH, provocando la liberación de ACTH que estimula a las células adrenales para la liberación del COT a torrente sanguíneo permitiendo su distribución por diferentes tejidos, como parte de los mecanismos de regulación negativa del eje un aumento en la concentración de COT permite la inhibición de la actividad de eje, tanto de la hipofisiario como hipotalámico, ya sea a través de la AM o de forma directa. Modificado de Blanchard y cols., (2008).

La amígdala es una de las regiones más importantes dentro de los procesos relacionados con el estado emocional, se considera como un área clave en el procesamiento emocional, en el desarrollo del aprendizaje y regulación del miedo. Si bien la AM se compone por 12 núcleos la información sensorial es recibida por la amígdala basolateral (BLA), región clave para el aprendizaje asociativo al miedo, a través de vías glutamatérgicas provenientes de la corteza sensorial, a través tanto de la región talámica como de la cápsula externa, posteriormente la información es enviada a amígdala central (CeAM) la cuál regula la reacción conductual al miedo

(Walker y cols., 2003). La AM representa un punto angular en la respuesta al estrés y al miedo, ya que tiene interacción tanto con el eje HPA, como con el eje noradrenérgico, presentando una actividad anormal en pacientes con ansiedad. Se sabe que la estimulación de la AM desencadena la activación del eje HPA tanto en roedores como en humanos (Rubin y cols., 1966; Van de Kar and Blair., 1999), aumentando de ese modo la secreción de cortisol en los seres humanos, y corticosterona en roedores (Manji et al., 2001); a su vez la administración de CRH aumenta la activación de la AM (Sved et al., 2002) evidenciando la estrecha regulación bidireccional que tiene con el eje HPA. La amígdala también se comunica con otras regiones como el área gris periaqueductal, desencadenando la respuesta de huida, el LC promoviendo la actividad del eje noradrenérgico y el estado de hiper alerta, y el raphe dorsal (Walker y cols., 2003).

La corteza prefrontal (CP) comprende un área grande en el lóbulo frontal, entre sus funciones destaca su participación en la toma de decisiones, la atención, la memoria de trabajo y la regulación emocional. La comunicación AM CP es una de las más importantes en la regulación emocional, proponiendo la regulación de la actividad de la AM por parte de la CP, y se ha demostrado una disrupción en esta comunicación en pacientes con TAG, TEPT (Blanchard y cols ., 2008 p.459).

En la respuesta ante la exposición a estresores el eje HPA se coordina junto con el eje noradrenérgico, a través de la actividad de la CRH a nivel neuronal, modulando diversas respuestas conductuales como un decremento en la actividad sexual, el sueño, apetito, la actividad exploratoria, la actividad locomotora y un aumento en el estado de alerta (Dunn y Berridge, 1990). Se ha demostrado el papel que desempeña el locus ceruleus en la respuesta al estrés, por medio de la actividad de la CRH el LC media la activación de el estado de hiper alerta en la ansiedad, (Valentino et al ., 2005). Estudios en roedores han demostrado que la activación del sistema noradrenérgico genera la secreción de CRH mediante la interacción entre el LC y el PVN, y por tanto la activación del eje HPA.

Mc Ewen., (1995) por medio del estudio de los niveles de ARNm de la tirosina hidroxilasa en el LC, después de la adrenalectomía; comprobó un decremento en

su expresión, demostrando un efecto de retroalimentación negativa por parte del eje HPA sobre el eje noradrenérgico; y de igual forma demostró que seguido de la liberación de cortisol a torrente sanguíneo se presenta un decremento en la actividad general del SNC reforzando sus hallazgos previos.

La respuesta tanto del LC como del eje HPA, se presenta tanto en la ansiedad patológica como en la no patológica, teniendo mayor activación del LC en individuos con TDAs (Young et al., 2005). Estudios enfocados en el análisis del estado comorbil de los TDAs y la depresión, describen una disrupción en la interacción entre ambos ejes, HPA y noradrenérgico con una actividad anormal de la amígdala. En el caso de la depresión se presenta una mayor actividad del eje HPA sin una hiperexcitabilidad del eje noradrenérgico, sin embargo, en comorbilidad con la ansiedad se presenta una mayor actividad de ambos circuitos; indicando una correlación estrecha entre los estados de ánimo y ansiedad en cuanto a su componente fisiológico (Brown et al., 1994; Frank et al., 1994;).

2.4 Neuroquímica y farmacología de la ansiedad

Durante la respuesta al estrés participan muchas regiones y circuitos neuronales, en los cuales actúan diversos tipos de neuronas, y por tanto, se han descrito múltiples factores neuroquímicos que de alguna manera tienen un papel en el desarrollo de ansiedad, aún cuando resulta difuso si la diferencia en la expresión y concentración de estos elementos es causa o consecuencia del desarrollo de ansiedad, dando como resultado el desarrollo de una variedad de fármacos con una amplia diversidad de mecanismos de acción.

Los primeros fármacos ansiolíticos en surgir al mercado fueron los barbitúricos, introducidos en 1903 con el barbital, sin embargo, a pesar de ser efectivos en el tratamiento de la ansiedad, también se identificó su toxicidad y otros efectos lesivos ocasionados por el tratamiento con barbitúricos, entre los que se incluyen el desarrollo de dependencia y la recurrencia del abuso en el consumo de estos (Blanchard y cols ., 2008 p.224).

Años más tarde las benzodiazepinas vieron la luz al mercado de los ansiolíticos con la salida del diazepam, del mismo modo que los barbitúricos las benzodiazepinas actúan sobre los receptores inotrópicos GABA_A, teniendo un efecto rápido comparado con otros ansiolíticos, y a pesar de que en la actualidad siguen siendo muy recurridos en el tratamiento farmacológico de la ansiedad, en especial al presentarse ataques de pánico, su uso se encuentra restringido y condicionado a algunos casos, en especial al presentarse ataques de pánico, ya que también generan dependencia, además de alta incidencia en su abuso y se relacionan con síntomas de aletargamiento, disrupción del sueño que en general pueden afectar el rendimiento laboral y personal (Blanchard y cols ., 2008 p.227).

Los receptores GABA_A se conforman como pentámeros compuestos por subunidades de diferentes familias de proteínas, dos subunidades alpha, dos subunidades beta y una subunidad gama, la activación de este receptor aumenta la permeabilidad del canal iónico permitiendo la entrada de Cl⁻, de modo que ante la entrada de estos iones, disminuye el potencial de acción de la célula generando la hiperpolarización inhibiendo la actividad celular (Chua y cols., 2017), las benzodiazepinas actúan de forma alostérica en estos receptores teniendo su sitio de unión entre las subunidades alpha (1,2,3 y 5) y gama, la actividad de estos fármacos facilita la actividad de GABA aumentando su afinidad al receptor y aumentando la frecuencia en la apertura de los canales (Fedotova y cols., 2017). Dada la distribución de estos receptores, se expresan en regiones importantes que permiten la modulación de las respuestas ansiosas, por ejemplo, se tiene una alta prevalencia de estos receptores expresando la subunidad alpha2 en regiones del sistema límbico, la subunidad alpha5 se expresa principalmente en células del HC, y la subunidad alpha3 en neuronas monoaminérgicas (Blanchard y cols ., 2008 p.229).

La serotonina es una de las monoaminas de mayor prevalencia y participación tanto al nivel del SNC como periférico, regulando diferentes procesos fisiológicos, como el ciclo circadiano, el sueño, el apetito, el procesamiento de la respuesta motora y los estados de animo, por ejemplo, por lo tanto, el sistema serotoninérgico es uno

de los más estudiados al tratarse de desordenes mentales, como la depresión y la ansiedad (Żmudzka y cols., 2018). A nivel del SNC las neuronas serotoninérgicas se encuentran mayormente distribuidas en los núcleos de raphe dorsal y medial, el hipocampo, el cuerpo estriado.

Desde la teoría postulada por Coppen (1967), a través de su análisis del efecto de fármacos que actúan sobre sistemas monoaminérgicos, se estableció la relación entre la concentración de serotonina y la depresión, fármacos que incrementan la concentración de serotonina tienen un efecto antidepresivo, del mismo modo a través del estudio de pruebas de confrontamiento se estableció la relación entre el sistema serotoninérgico y la ansiedad, Graeff y Schoenfeld (1970)., demostraron que el ácido bromolisérgico, un agonista no selectivo a los receptores de 5-HT, genera una disminución en las respuestas ansiosas en ratas ante la exposición a choques eléctricos. Dentro de los sistemas de respuesta al estrés, se observa la participación de neuronas serotoninérgicas en la interacción entre el raphe dorsal, la CP y la AM, de modo que dichas neuronas participan en la interacción entre ambos sistemas noradrenérgico y el eje HPA, principalmente a través de sus proyecciones en la AM (Blanchard y cols ., 2008 p. 458).

El uso de los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina en el tratamiento de la depresión y ansiedad sentó una de la bases más solidas para el estudio del papel de la serotonina en el desarrollo de ambas patologías; el incremento de la concentración de serotonina en el espacio sináptico, ha demostrado generar la represión de las conductas ansiosas, ello en individuos adultos, ya que la administración de algunos SSRIs se encuentra contraindicada en infantes actuando como ansiogénicos, (Lochman y Richardson., 2018).

Los SSRIs incrementan la concentración extracelular de la serotonina a través del bloqueo del transportador SERT localizado en las terminaciones nerviosas sinápticas (Kroeze y cols., 2012), dicho incremento se presenta en diversas regiones neuronales, y de ha demostrado mediante estudios utilizando micro diálisis seguida de estudios con HPLC (Bel y Artigas., 1993).

Los SSRIs fueron los primeros fármacos psicotrópicos diseñados de forma racional, con la aplicación de técnicas *invitro* para el estudio de su afinidad selectiva por su

receptor (Perskorn.y Stanga., 2004), dando como resultado la salida a la venta del primer SSRI, la fluxetina en 1987, y desde entonces los SSRIs se han convertido en los antidepresivos y algunos de los medicamentos mas utilizados en el tratamiento de TDAs (Lochman y Richardson., 2018). Al tratarse de fármacos cuyo principal objetivo es normalizar la concentración de serotonina y debido a su mecanismo de acción, los efectos sobre la ansiedad se presentan a través del tratamiento crónico, alcanzándose valores normales de serotonina a partir de las 2 semanas de tratamiento (Lochman y Richardson., 2018).

Entre los efectos secundarios reportados ante el consumo de SSRIs, se encuentran dolores de cabeza y mareos recurrentes, perdida del control de esfínteres en la evacuación, ansiedad en grupos sensibles al tratamiento, insomnio u somnolencia, nauseas y con menor frecuencia como anorgasmia y dificultad para alcanzar la eyaculación, presentándose los problemas de disfunción sexual ya avanzado el tratamiento. Estos efectos dependen de la sensibilidad de cada paciente, así como de la dosis, en algunos casos bastando la reducción de esta suficiente para evitar dichos efectos, sin embargo, en algunos casos se requiere de suspender el consumo de estos psicotrópicos (Perskorn.y Stanga., 2004).

De los 14 subtipos de receptores serotoninérgicos los receptores 5-HT_{1A} son de los más estudiados en lo que a ansiedad respecta, cuyo gen en el caso de los seres humanos se localiza en el cromosoma 5q11.1-q13, que codifica para una proteína de 421 aminoácidos; en cuanto a los modelos murinos la estructura proteica corresponde también a 421 aminoácidos en el caso de los ratones y a 422 para el caso de las ratas (Boess y cols., 1994). Se trata de receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G_{i/o}, controlando diversas señales intracelulares, como la activación de canales de potasio, la inactivación de canales de calcio, y la inhibición de formación de cAMP; (Garcia y cols., 2014); subdivididos en dos poblaciones principales, los autoreceptores y los héteroreceptores. Los autoreceptores 5-HT_{1A} se expresan principalmente en las células serotoninérgicas de los núcleos de raphe, en regiones límbicas y corticales, y se encuentra tanto en el soma como en las dendritas, relacionándose con la regulación de funciones cognitivas (Hjorth y cols.,

2000). Su actividad hiperpolariza a las células, reduce su actividad de disparo, y reduce la liberación de serotonina (Chen y cols., 1996); a través de este mecanismo la serotonina actúa suprimiendo la transmisión neuronal (Žmudzka y cols., 2018).

Por su parte los heteroreceptores 5-HT_{1A} se encuentran expresados en su mayoría en el sistema límbico en los axones de células colinérgicas y gabaérgicas, se asocian con la regulación emocional y funciones cognitivas (Popova y cols., 2013). Se ha visto que estos receptores regulan la liberación de otros neurotransmisores, como acetilcolina en el septum medial, glutamato en la corteza prefrontal y dopamina en la VTA (Žmudzka y cols., 2018).

García y colaboradores (2017)., demostraron que, para la aparición de efectos ansiolíticos seguido de la estimulación optogenética, es necesaria la activación de los receptores 5-HT_{1A} de la región dorsal del núcleo estriado.

Los agonistas de los receptores 5-HT_{1A} como su nombre lo indica potencian su función, pueden clasificarse en dos subtipos, como agonistas totales como es el caso de 8-Hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralina (8-OH-DPAT), uno de los agonistas totales más estudiados, y agonistas parciales como lo es su enantiomero L, o la familia de las azaspironas, que comprende a la tandospirona, la buspirona, ipsapirona y la gepirona (Huang y cols., 2017); en ambos casos se ha demostrado que este tipo de compuestos tienen efectos ansiolíticos y antidepresivos, la buspirona ya se ha empleado como un fármaco ansiolítico en seres humanos y, al igual que el 8-OH-DPAT y las demás azapironas, ha demostrado reducir las conductas ansiosas en roedores, de forma dosis dependiente (Berl., 1995., Nishitsuji y cols., 2004), por ejemplo se ha demostrado que en dosis bajas, el uso de agonistas parciales de los receptores 5-HT_{1A} incrementan el consumo de alcohol en monos y ratas, mientras que a dosis altas lo reducen (McKenzie y Miczek., 2003). A pesar de que se ha demostrado su efectividad los agonistas totales tienen una pequeña ventana dosis efecto en la cuál pueden pasar a tener un efecto ansiogénico y desencadenar efectos secundarios como temblor, mareos, ataxia e incluso pérdida de la conciencia, por su parte los agonistas parciales mencionados, si bien resultan más seguros, requieren de concentraciones más altas y también comparten los efectos secundarios ocasionados por los agonistas

totales al pasar cierto umbral de dosis respuesta (Collinson y cols., 1997). Depoortere y cols., 2019).

Se ha encontrado que algunos alcoholes aromáticos como los alcoholes indólicos presentan actividad agonista para los receptores 5-HT_{1A}, compuestos como el pindolol y el linalool han demostrado tener efectos ansiolíticos, en especial al combinarse con dosis bajas agonistas parciales de mayor afinidad, prolongando su efecto ansiolítico, y permitiendo reducir el riesgo de efectos secundarios (Silveira y cols., 1995. Harada y cols., 2018).

2.5 Modelos en el estudio de la ansiedad

2.5.1 Modelos Animales

Los modelos animales son recursos experimentales que permiten el estudio del funcionamiento fisiológico en un estado de salud o emular diversas enfermedades humanas, permitiendo el crecimiento en el avance tecnológico y científico, y creando nuevas perspectivas, especialmente cuando las condiciones experimentales son difíciles o imposibles de realizar en sistemas celulares aislados o en seres humanos (Blanchard y cols., 2008 p.11).

Desde las primeras observaciones realizadas por Charles Darwin, se ha desarrollado el concepto de la preservación filogenética de la expresión emocional entre especies (Lezak y cols., 2017), si bien existen aspectos de la ansiedad que no pueden evaluarse en modelos animales, tales como los pensamientos intrusivos o sentimientos como la culpa y otros parámetros psicológicos, los modelos animales permiten emular condiciones específicas para la evaluación de la reactividad emocional a través de la conducta en sujetos no humanos, así como la evaluación de las respuestas fisiológicas a estresores e inclusive cambios anatómicos (Lorenz y Vargas., 2011).

Lo principal a tomar en cuenta al proponer un modelo animal es su validez, un modelo ideal debería de cumplir tanto con validez predictiva, validez de constructo y validez aparente (Blanchard y cols., 2008 p.15; Lezak y cols., 2017. Harro y cols., 2018). La validez predictiva se refiere a la capacidad que otorga el modelo de poder

predecir descubrimientos futuros, generar nuevas hipótesis a partir de la implementación del modelo, siendo el factor de mayor importancia, si el modelo carece de validez predictiva, el modelo es invalido. Por su parte la validez aparente se enfoca en los aspectos a evaluarse y ser medidos en el modelo, de que forma emula, o se asemeja a los percibido en los seres humanos, si existe un valor equivalente entre el modelo animal y lo percibido en la patología vista en personas; siendo la validez aparente la que en muchos modelos es difícil de establecer, en especial tratándose de enfermedades mentales en donde no es posible evaluar el componente psicológico en modelos animales. La validez de constructo se enfoca en las bases teóricas sobre las que el modelo se sustenta, y si el modelo permite generar nuevas perspectivas teóricas a partir de los resultados obtenidos con su aplicación (Blanchard y cols ., 2008 p. 16-17). Si bien los modelos animales no necesariamente cumplen con la validez aparente y de constructo para ser útiles, ambos tipos de validez son deseables, y los modelos animales que las cumplen poseen mayor versatilidad para su aplicación y la generación de conocimiento (Lorenz y Vargas., 2011).

Tomando en cuenta que aspectos hacen a un modelo valido, la selección del modelo debe de tomar en cuenta de facto la validez de predicción y tener una validez de constructo solida, además de que es importante definir la patología que se busca estudiar en el modelo; la validez aparente depende entonces de que el modelo seleccionado sea acorde a las condiciones que se desean evaluar; en el caso de la ansiedad es importante tomar en cuenta que aspectos se buscan emular, si se trata de un TDA en específico, es deseable que existan condiciones y factores equivalentes a la patología en seres humanos.

Un ejemplo es el caso del protocolo de estrés prolongado de evento único (EPEU), el cuál se trata de un modelo de estudio de el TEPT; este modelo se basa en la exposición de los roedores a diferentes estresores de manera continua, primero se somete al sujeto a 2h de restricción de movimiento, seguido de 20 min de nado forzado, 5 min de recuperación y finalmente sometiendo a los individuos a la perdida de conciencia mediante el uso de vapor de éter; este modelo permite entonces evaluar distintos signos clásicos del TEPT, hiper-reactividad a los

estímulos relacionados con el trauma, disrupción del ciclo circadiano, y una respuesta exagerada ante otros estresores; de igual forma se desarrollan las condiciones fisiológicas clásicas de la ansiedad, un aumento en COT, NR, disminución en la concentración de 5-HT en la zona pre sináptica, tratándose de un modelo con validez predictiva, de constructo y apariencia, fallando únicamente en la evaluación de los componentes psicológico clásicos del TEPT, pesadillas recurrentes y pensamientos intrusivos (Lisieski y cols., 2018), los cuales no pueden validarse en modelos animales, de igual forma existen otros protocolos enfocados a evaluar el efecto de la exposición a estresores en condiciones muy específicas, como lo es la exposición a eventos aversivos en el periodo post natal, como es la separación de la madre, o la exposición a cambios bruscos de temperatura, (Lezak y cols., 2017) estos modelos pretenden evaluar los efectos fisiológicos de la experimentación del trauma en la infancia ya que se han relacionado con el desarrollo de TDAs y depresión (Raskin y cols., 1982).

Una de las formas en que se pueden clasificar los modelos animales para el estudio de la ansiedad, es si las conductas evaluadas son condicionadas o no condicionadas.

Los modelos animales no condicionados empleados para el estudio de la ansiedad, se basan en las características intrínsecas de la prueba, sin incorporar efectores negativos o positivos externos que generen el condicionamiento del animal, en su mayoría se basan en la exposición de los sujetos de pruebas a ambientes novedosos (Campos y cols., 2013).

Uno de los modelos animales más ampliamente utilizados es el laberinto en cruz elevado (LCE); propuesto en 1984 por Handley y Mithani, basándose en el laberinto en Y de Montgomery (1955), consiste en un laberinto con dos brazos abiertos y dos brazos cerrados suspendidos del suelo, la prueba se basa en la toma de decisión de los roedores ante un ambiente novedoso, teniendo dos posibles elecciones, la exploración de los brazos cerrados o descubiertos, teniendo dos componentes, la exploración y la predisposición de los roedores a la tigmotaxis por los lugares cerrados y oscuros, ya que este tipo de conductas se enfocan en la evasión de lugares descubiertos, en los cuales resultan un blanco evidente para los

depredadores. En el LCE se asocia el tiempo de estancia en los brazos abiertos con un como una conducta que denota menor ansiedad, mientras que se determina a los brazos cerrados como un área ansiolítica, preferida por individuos ansiosos (Walf y Fyre., 2013). La prueba de LCE ha demostrado ser útil para evaluar el efecto ansiolítico y ansiogénico de diferentes fármacos, la administración de BDZ genera un incremento en la permanencia en los brazos abiertos, y por su parte ansiogénicos como la picrotoxina generan el efecto opuesto. El laberinto en cero tiene las mismas bases, se trata de un laberinto en forma de elipse, elevado, que posee dos áreas descubiertas y dos cerradas, a diferencia del LCE este no posee un área central, por lo que evita el tiempo “muerto” obligando al sujeto a la elección obligada, la permanencia en un área cerrada o un área descubierta (Campos y cols., 2013).

Otra de las pruebas más recurridas es la prueba de campo abierto, que consiste en una arena amplia más grande que la caja donde el animal suele vivir, siendo un lugar novedoso, en la cuál los roedores se encuentran expuestos, resulta una herramienta útil para evaluar la exploración, la ansiedad, a través de la prueba de reconocimiento de objetos la memoria, entre otros estudios. En el caso del estudio de la ansiedad, el campo abierto evalúa el tiempo de permanencia en el centro y la tigmotaxis como principales factores para determinar la conducta ansiosa de un roedor; al igual que el caso del LCE, se evalúa la aversión por sitios expuestos, la prueba suele tener una duración de 5 a 20 minutos, además de su estancia en el centro o la periferia de la arena, en la prueba se suelen evaluar conductas estereotipadas relacionadas con la ansiedad como la inmovilidad, el aseo e incluso el número de micciones y bolos fecales (Harro., 2018).

Otra de las pruebas más utilizadas basada en la preferencia por lugares cerrados y oscuros es la caja luz oscuridad, esta prueba consiste en dos compartimentos diferentes unidos por una única entrada, uno se encuentra oscuro, mientras que el otro es un compartimento iluminado donde el animal se ve expuesto; de esta forma se evalúa la permanencia y número de entradas a cada compartimento,

considerando la permanencia y entradas al iluminado como un indicador de la reducción de la ansiedad, o una conducta poco ansiosa (Lezak y cols., 2017).

Diferente a las pruebas que utilizan la aversión natural por los roedores a lugares abiertos, la prueba de enterramiento defensivo, presenta un estímulo aversivo no condicionado, esta prueba dura 15 minutos y se introduce un elemento nuevo en una arena de dimensiones similares a la caja donde habita el roedor, el roedor se encuentra habituado al ambiente y se le presenta un objeto novedoso, un electrodo de 6 cm que genera una descarga eléctrica moderada al tocarlo, al recibir el choque eléctrico el roedor reacciona enterrando el electrodo, en esta prueba se observa el tiempo utilizado en el enterramiento del objeto aversivo, el número de contactos con el electrodo, intentos de escape e inmovilidad; se ha demostrado que compuestos ansiolíticos generan un decremento en el tiempo que emplea el sujeto en enterrar el electrodo, además de incrementar el número de contactos con este (Blanchard y cols ., 2008 p. 21-22).

Los modelos animales condicionados por su parte se basan en la evaluación de respuestas específicas a un estímulo determinado, ya sea positivo o aversivo que en muchos casos es un choque eléctrico. En este tipo de pruebas se requiere del entrenamiento de los sujetos, además de que el diseño experimental muchas veces involucra muchos grupos de sujetos control, esto para poder centrarse en el estudio de la ansiedad y poder descartar factores como la memoria o el aprendizaje. Estos modelos se dividen a su vez en dos tipos, el condicionamiento clásico o pabloviano y el condicionamiento no pabloviano u operante; el primero requiere de la asociación del estímulo neutro con un evento aversivo, de modo que al retirar el estímulo aversivo el neutro es capaz de generar la respuesta. El condicionamiento operante se encuentra principalmente en las pruebas de evitación,

Del mismo modo destaca el uso de modelos murinos con características particulares, que permiten el estudio con mayor profundidad de los mecanismos que intervienen en el desarrollo y la disipación de la ansiedad, desarrollando modelos principalmente de ratones Knock out y Knock down, a proteínas específicas, como

lo es el caso de los receptores serotoninérgicos 5-HT1A y 5-HT2A, o modelos knock down para el estudio del papel de la enzima MAOI.

De igual forma existen modelos animales cuya obtención se ha dado a través de la selección artificial, buscando la obtención de subpoblaciones que varían en uno o más aspectos fenotípicos relacionados con la ansiedad, como lo son las ratas Roman LAB (low avoidance) y HAB (high avoidance), seleccionadas por su conducta en el LCE (Kulikov y cols., 1995).

2.5.3 Estudio de la ansiedad en modelos humanos.

Los modelos humanos empleados para el estudio de la ansiedad, tienen como principal objetivo evaluar factores que no pueden medirse en los modelos animales, además de que en muchos casos las conductas observadas en los modelos animales no siempre son relacionables con lo observado en patologías humanas. En contraste los modelos humanos se ven limitados por factores éticos, y muchas veces se enfocan en estudios clínicos y de ciencia básica sobre la ansiedad. Los modelos humanos pueden clasificarse en dos tipos, aquellos que generan ansiedad a través de estímulos psicológicos; en ambos casos se genera un estado de ansiedad controlado en los sujetos (Siepmann y Joraschky., 2007).

En el caso de estos modelos requieren de cumplir con los parámetros de seguridad, las pruebas no deben afectar el estado de salud del sujeto, además de que los efectos provocados por la prueba deben ser temporarios; el modelo debe ser reproducible; los efectos observados en las pruebas deben poder discriminarse de aquellos que no tienen relación con la prueba por sí misma, y que más bien, pueden atribuirse a factores externos como experiencias del sujeto, su estado de salud o contacto con factores que pueden interferir con el ensayo; para este caso la selección de los sujetos de prueba deben pasar por varios filtros. Este tipo de modelos también deben contar con validez clínica, es decir, relacionada con la validez de constructo, el modelo debe contar con bases de estudio previas muchas veces provenientes de ensayos con modelos animales, como lo es en el estudio de fármacos (Blanchard y cols ., 2008. P. 414).

Un ejemplo de modelo en el cuál el estímulo es a través de factores psicológicos, es la prueba de estrés social de Trier; la cuál ha sido ampliamente usada para evaluar diversos aspectos fisiológicos, principalmente las respuestas endocrinas ante una situación de estrés; la prueba tiene lugar entre las 9 am y la 1pm, o de 4pm a 7pm, debido a la variación natural de los valores hormonales durante el día; la prueba requiere de sujetos sanos, voluntarios de la misma edad \pm 3 años; los sujetos deben cumplir una serie de tareas mientras son evaluados, con el tiempo y recursos limitados; la presión social ejercida por la evaluación genera un estado de ansiedad, y pasada la prueba a distintos tiempos se toman muestras de orina y sangre para evaluar principalmente, la concentración de glucocorticoides y noradrenérgicos (Kirschbaum y cols ., 1993).

Existen muchos modelos basados en la administración de componentes químicos para el estudio de la ansiedad, el confrontamiento con dexametasona, por ejemplo, se a empleado para comparar la respuesta de recuperación del eje HPA de pacientes con diferentes TDAs contra controles sanos. Otro ejemplo es la administración de lactato de sodio o dióxido de carbono, para inducir síntomas similares a los presentes en el PD, en el caso del dióxido de carbono, se ha demostrado que en personas con PD o con alta sensibilidad se desencadenan síntomas de ansiedad, mientras que en los controles sanos esto no ocurre; por su parte la administración de lactato genera ansiedad en pocas personas pertenecientes al grupo control, mientras que pacientes con TDAs se muestran más sensibles (Siepmann y Joraschky., 2007).

3. Antecedentes

3.1 Sublíneas de alto y bajo bostezo

Las sublíneas de alto bostezo (High yawning; HY), y bajo bostezo (Low yawning; LY) fueron obtenidas en las instalaciones del instituto de fisiología de la Benemérita

Universidad Autónoma de Puebla, a través de un proceso de selección artificial, por medio del cruce endogámico de ratas de la cepa Sprague Dawley. El proceso de selección para el cruce selectivo y la obtención de la sublínea HY, se suscitó al identificar a un macho de dos meses de edad que presentó un total de 22 bostezos por hora de forma espontánea; de esta forma se realizó el cruce con una de sus hermanas obteniendo la F1, sin embargo la descendencia no presentó el fenotipo deseado, probablemente al tratarse de un carácter recesivo, fue entonces que se tomó la decisión de cruzar al macho de alto bostezo con una de sus descendientes F1, y se siguió con la selección a través del cruzamiento entre hermanos (Urbá-Holmgrem y cols., 1990). Por su parte la sublínea LY surgió de una forma similar, en ese caso se realizó la selección de individuos de la cepa SD que presentaran menos de 5 bostezos por hora. Urbá-Holmgrem y cols., (1990) describen que las diferencias significativas en la frecuencia de bostezo entre ambas sublíneas surgieron en la F3; caracterizándose por una media de 20 bostezos por hora para las HY, y 2 bostezos por hora las LY.

Tratándose de un proceso de selección realizado por la cruce entre organismos emparentados, fue de esperarse que los procesos de recombinación genómica dieran origen a sublíneas con mutaciones poligenéticas. Ambas sublíneas de ratas no difieren únicamente en cuanto al bostezo, a lo largo de los años se ha demostrado que existen diferencias en varias conductas estereotipadas, la conducta materna, sexual y el aseo se presentan de forma diferente entre las ratas HY y LY.

Se ha demostrado que las ratas de alto bostezo son más activas y presentan menor reactividad emocional ante un ambiente novedoso o estresante, por su parte las ratas de bajo bostezo resultan ser menos resilientes y tener mayor frecuencia en conductas ansiosas y relacionadas con la depresión (Moyaho y cols ., 1995).

De igual forma ambas sublíneas de ratas presentan una respuesta diferente a los tratamientos farmacológicos, Urbá-Holmgrem y cols., en 1993 demuestran que el tratamiento con fármacos dopaminérgicos y colinérgicos, generan un efecto

diferente sobre las conductas de aseo y de bostezo en las ratas HY y LY, atribuyendo la diferencia a una variación en la activación de los receptores D1, D2 y D3, suposición que fue evaluada por Eguibar y colaboradores (2003)., en donde las diferencias en la conducta de aseo son consecuencia de la activación del receptor D2; demostrando que hay una diferencia en el funcionamiento del sistema dopaminérgico entre ambas sublíneas.

En trabajos previos se ha demostrado que los machos LY, tienden a tener menor incidencia en entrar a los brazos abiertos en el LCE, con respecto a los machos de la sublínea HY, los cuales permanecen más tiempo en los brazos abiertos del laberinto, entran en menos ocasiones y permanecen un menor tiempo en los brazos cerrados que los machos LY. En cuanto a la exploración por los bordes de los brazos abiertos, son los machos LY los que presentan mayor tendencia a realizar este comportamiento (Eguibar y cols ., datos no publicados). Del mismo modo al someter a las ratas LY y HY a restricción de movimiento, midiendo sus niveles de corticosterona, se determinó que las ratas LY presentan un pico de mayor amplitud que las ratas HY, sin embargo, la reducción en la concentración de la hormona se da de forma más rápida en las ratas de bajo bostezo que en las HY (Uribe., 2010)

3.2 Triptofol

El triptofol (TrpOH) es un alcohol aromático conformado por un grupo indol enlazado a un grupo etilo, de forma natural se encuentra en bajas concentraciones en productos no destilados de la fermentación alcohólica, como subproducto del catabolismo de las levaduras a través de la vía descrita por Ehrlich (Eden y cols., 2001), en procesos fermentativos el TrpOH actúa como un regulador de crecimiento, permitiendo modular el “quorum sensing” de las levaduras (Nederveelde y Benvenisty., 2001., Albuquerque and Casadevall., 2012) .

Del mismo modo se dispone como un metabolito secundario en la vía metabólica de la serotonina en mamíferos, a partir de la conversión de la serotonina por la MAO-

A en acetaldehído de hidroxindol, el cual a su vez por una reductasa es convertido en triptofol.

Diversos trabajos se han focalizado en sus efectos biológicos siendo un compuesto con propiedades somníferas; el TrpOH se identificó como un responsable de los síntomas presentados en tripanosomiasis, además de actuar en la termorregulación (Seed y cols., 1977), del mismo modo ambas propiedades se han estudiado en modelos murinos por ejemplo, Richard y cols., (1977) realizaron un estudio sobre sus efectos sedantes en ratones, además de evaluar su efecto sobre la temperatura, por medio de la administración IP del compuesto.

Sin embargo, el punto de interés en el presente caso se ciñe sobre su intervención en el sistema serotoninérgico, Conford y colaboradores (1979), demostraron la prevalencia del compuesto en vías serotoninérgicas. Se ha señalado al TrpOH como un agonista parcial del receptor 5-HT_{1A} (Chidlow y cols., 1995), y aún cuando no se han reportado muchas investigaciones al respecto, por su carácter como agonista parcial de dicho receptor se propone que pudiera presentar un efecto ansiolítico.

4. Justificación

Los TDA son unos de los principales trastornos mentales en cuanto a prevalencia tanto en México como a nivel mundial, aunado a ello representan un factor de riesgo para la aparición de otras enfermedades como la depresión, y dado que no todos los pacientes responden de forma adecuada al tratamiento, surge la necesidad de realizar estudios sobre el efecto de compuestos ansiolíticos, en individuos con propiedades fenotípicas diferentes. Por sus características de respuesta al estrés, y sus diferencias fenotípicas marcadas, las sublíneas de alto bostezo (HY) y bajo bostezo (LY), resultan ser un modelo útil para este tipo de estudios.

5.Hipótesis

Al existir un peso importante de las características genéticas y epigenéticas sobre el desarrollo de un trastorno de ansiedad, se obtendrá una respuesta diferente por parte de las ratas HY, LY y SD ante el tratamiento con ambos agonistas del receptor 5-HT1A; y dado que se ha comprobado la eficacia de este tipo de compuestos en el tratamiento de la ansiedad, se obtendrán resultados en los cuales exista una repercusión en las conductas ansiosas de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD.

6.Objetivos

6.1 objetivo general

Determinar si existen diferencias en la respuesta al tratamiento agudo con un agonista del receptor del 5-HT1A, en la ansiedad de ratas LY, HY y SD macho, al tratarse de individuos fenotípicamente diferentes.

6.2 Objetivos particulares

1. Determinar la dosis de triptofol en la cuál las ratas HY, LY y SD presenten menos ansiedad.
2. Determinar si hay una afectación en las capacidades motoras de las ratas HY, LY y SD al recibir tratamiento con ambos compuestos a las distintas dosis.
3. Comparar los efectos de ambos compuestos sobre la ansiedad de las ratas HY, LY y SD.

7. Metodología.

7.1 Animales.

Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague Dawley (SD) y de las sublíneas de alto (HY) y bajo bostezo (LY), de una edad de 10 semanas (al realizarse los experimentos); las cuales fueron criadas y se mantuvieron en el bioterio del laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor, en el Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; a una temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de entre el 35%-45%, provistas de agua purificada y alimento *at libitum*. Los sujetos fueron trasladados al cuarto de pruebas dos semanas antes de realizar el experimento, se realizó la observación basal de bostezo verificando que la frecuencia de cada sublínea correspondiera al fenotipo (Un promedio de 20 bostezos por hora en las ratas de alto bostezo, de 2 bostezos por h para las de bajo bostezo). Los individuos se dividieron de forma aleatoria de acuerdo con el tratamiento y dosis, teniendo un grupo control para cada fármaco; con una n=6 individuos de cada sublínea por grupo. Todas las pruebas y tratamientos se realizaron de acuerdo con la NOM-062, respecto al uso de animales.

7.2 Fármacos.

Los fármacos se obtuvieron de Sigma-Aldrich: 3-2(hidroxietil)indol (triptofol) T90301; R-8-Hidroxi-2-(Dipropilamino)Tetralin-Hidrobromuro (8-OH-DPAT) H8520. El triptofól fue administrado IP 16h antes del experimento en un inicio a las dosis de (50,100)mg/Kg en 1ml utilizando DMSO como vehículo; el 8-OH-DPAT por su parte fue administrado de forma subcutánea 20min antes del experimento, en un principio a una dosis de 0.1mg/Kg en 1ml utilizando agua inyectable como vehículo. Del mismo modo se administrarán los vehículos bajo las mismas condiciones de cada tratamiento correspondiente para los grupos controles.

7.3 Procedimiento.

La administración del tratamiento con triptofol o DMSO (control), se realizó a las 19:00 pesándose el mismo día, teniendo lugar la prueba de LCE 16h después, a las 11:00 del día siguiente, sucedida por la prueba de ROTAROD entre 11:50 -12:30 . Para comparar los efectos del TrpOH como agonista parcial del receptor 5-HT1A, con un fármaco previamente estudiado, se decidió utilizar el 8-OH-DPAT, uno de los fármacos agonistas del receptor 5-HT1A más utilizados. Dada la rápida metabolización del 8-OH-DPAT, se pesó a los animales la mañana del experimento y se administró 20min antes de las pruebas, las cuales se realizaron a las 11:00. Todas las pruebas de conducta fueron video grabadas; posteriormente los videos fueron calificados utilizando el programa "The Observer XT v.12.0" para Windows. Todos los experimentos se realizaron en un cuarto de pruebas con una temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de entre el 35%-45%.

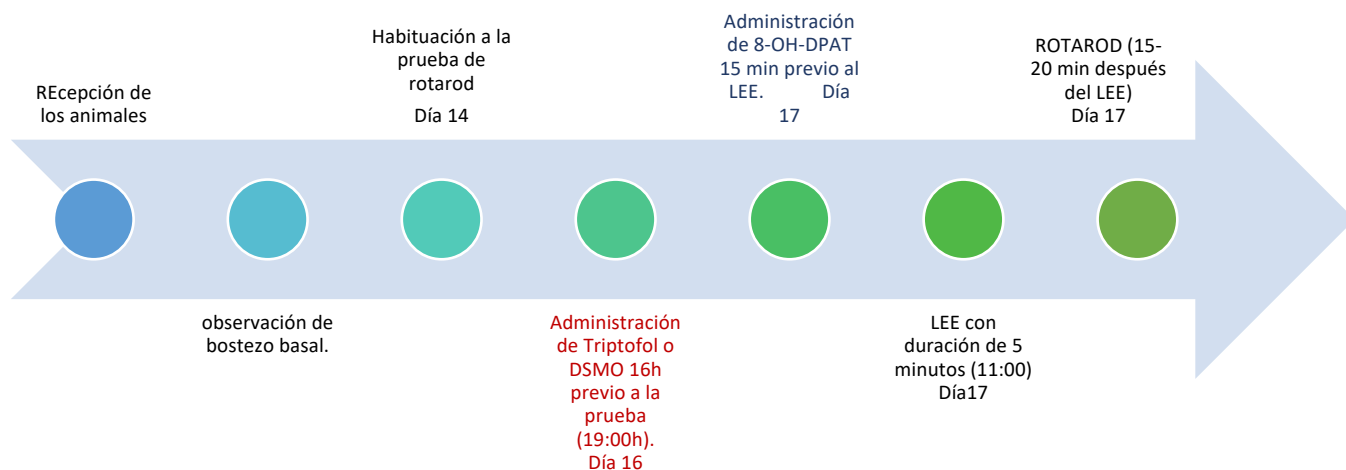


Fig 3. Procedimiento a lo largo del tiempo. En el diagrama se toma como día 1, cuando las ratas llegaron al cuarto de experimentación.

7.4 Observación de bostezo.

Al momento de la recepción de los animales se realizó la observación de bostezo basal; teniendo los animales 2 meses de edad y realizándose de 9am con duración de 1h, con la finalidad de disminuir la variación el bostezo por factores circadianos, de acuerdo con el protocolo descrito por Holgrem y colaboradores (1985)., las ratas se ubicaron de manera individual en un cristizador de 190 mm de diámetro y 100 mm de alto, con papel filtro en la base y con una cubierta de plexiglass dejando 1cm de apertura para ventilación, ubicando espejos a los laterales y detrás con la finalidad de eliminar, las observaciones se realizaron *in vivo* anotando los eventos de aseo, las erecciones y los bostezos, señalando el minuto en el que se realizaba la conducta, realizando el conteo del número de eventos de cada conducta. Los individuos que no cumplieran con el fenotipo de bostezo acorde a la sublínea a la que pertenecieran fueron descartados para los experimentos, siendo un mínimo de 20 bostezos/h para la sublínea HY, un máximo de 5 bostezos para la sublínea LY, y un máximo de 2 bostezos/h para los individuos de la cepa SD (de acuerdo con los datos reportados en la literatura); con el fin de emplear únicamente a los individuos con el fenotipo esperado.

7.5 Laberinto en cruz elevado.

La prueba de laberinto en cruz elevado es uno de los estudios más utilizados para la evaluación de la ansiedad, (Arantes y cols ., 2013). Los cuales se disponen en cruz (figura. 1), a una altura de 50cm. Durante la prueba se evalúan principalmente el número de entradas tanto a los brazos abiertos como a los cerrados, además del tiempo total que el individuo permanece en cada uno de ellos, por 5 min que dura la prueba, en dicha prueba también fueron contempladas conductas relacionadas a la ansiedad como lo son, la conducta de aseo, eventos de inmovilidad, exploración los bordes de los brazos abiertos, y apoyos.

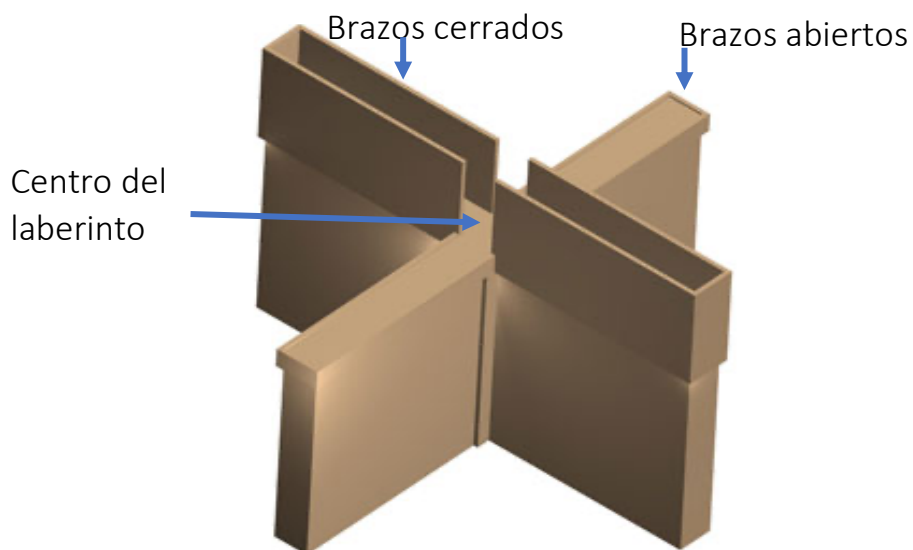


Figura 4. Laberinto en cruz elevado. Los brazos cerrados del laberinto son el espacio ansiolítico, los brazos abiertos representan el área ansiogénica.

Se realizó la prueba de LCE 16h después de la administración del triptofól y 20min después de la administración del 8-OH-DPAT. La rata se colocó en el centro del laberinto de frente a uno de los brazos cerrados, punto a partir del cual se utilizó un temporizador para medir el tiempo de la prueba, la cual tuvo una duración de 5 min en cada caso. Se evaluó tanto el número de entradas como la duración de la estancia tanto en los brazos abiertos como cerrados, la duración de estancia en el centro, la exploración vertical comprendida por erguidos y apoyos, así como asomos por los bordes de los brazos abiertos; en caso de que el sujeto cayera del laberinto se volvió a colocar desde el punto de la caída.

7.6 ROTAROD

La prueba de ROTA-ROD tiene como principal finalidad poder evaluar el efecto de los fármacos sobre la capacidad motora, otorgando una aproximación. El equipo consta de un rodillo giratorio dividido en cuatro carriles, el animal se coloca sobre el rodillo y se evalúa su capacidad de permanecer en él, a través de la contabilización del número de caídas y la latencia de la primer caída. Este ensayo requiere del aprendizaje del animal a permanecer sobre el rodillo giratorio, por eso es necesaria la aclimatación de los animales al aparato (Bohlen y cols ., 2004).

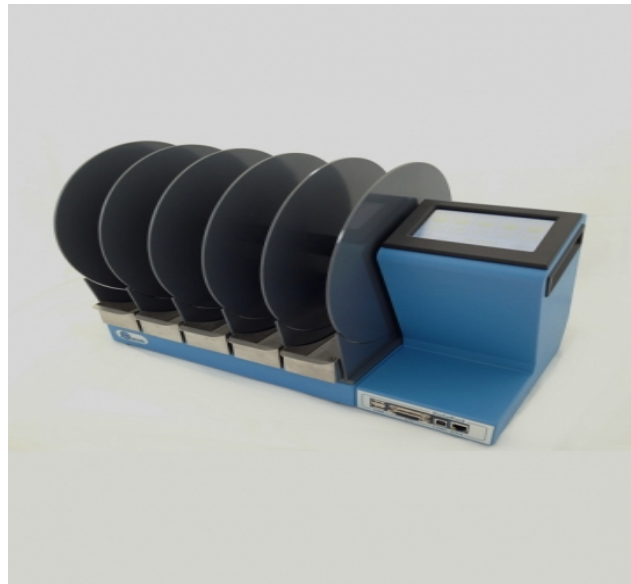


Figura 5. Rotarod. Se observa el aparato que consta de un rodillo giratorio dividido en carriles, que permite evaluar la coordinación motora.

Con respecto al rotarod se realizará la sección de habituación dos días antes del experimento la cuál ha de constar de tres rondas de 5 min, por dos rondas de 3 min de descanso entre cada una; teniendo las primeras dos a una velocidad de 5rpm, de modo que la tercera se realizó de igual forma que en la parte experimental, configurando el equipo con un aumento progresivo de la velocidad del rodillo giratorio, tomando como inicio una velocidad de 5rpm, una velocidad de rampa de 10rpm hasta llegar a una velocidad máxima de 15 rpm, los animales subieron al

aparato (Rota-Rod modelo 47750, Ugo basile ®) , por parejas asignadas de forma aleatoria. El día del experimento la prueba se realizó siempre entre las 11:50 y 12:30 tras concluir el experimento con el LCE, las ratas pasaron a la prueba por parejas colocandolas en tam-dem, para evitar un contacto directo entre los individuos, tratando siempre de no repetir pareja con respecto a la habituación.

7.7 Tratamiento estadístico.

Para determinar el efecto del triptofol en la prueba de LCE y ROTAROD, se hizo uso de la prueba de analisis de varianza de dos vías (Two way ANOVA), tomando como factores tanto la dosis del fármaco, como las sublíneas de las ratas; se utilizó una análisis de varianza de tres vías (three way ANOVA); para la comparativa entre los dos fármacos, tomando en cuenta el tratamiento, triptofol, DMSO o 8-OH-DPAT, la dosis y la sublínea a la que pertenece cada grupo como factores, seguido por una prueba post hoc de Tuckey, se tomará como significativa una diferencia en cuya $P \leq 0.05$; los resultados se reportan mostrando el E.E.M (error estandar de la media). Todos los datos serán procesados en el programa “Sigma Plot”, versión 11.0 para Windows. Para el caso del laberinto se tomará tanto el número de entradas a los brazos abiertos y cerrados, como el tiempo de permanencia en los mismos, además de comparar la exploración vertical, tanto de asomos por los bordes como erguidos y apoyos. En el caso del rotarod se evaluará la latencia de las caídas del rodillo.

8. Resultados

8.1 Determinación del efecto del triptofol en la ansiedad de las ratas HY, LY y SD en el LCE.

Respecto al número de entradas en los brazos abiertos, se utilizó la prueba de ANOVA de dos vías, seguido de la aplicación del metodo de Holm-sidak al comparar múltiples grupos, y una prueba de Tukey en cada sublínea, obteniendo diferencias significativas unicamente a la dosis de 200 mg/Kg en la cepa SD ($p < 0.05$, $q = 3.897$),

mostrando un aumento progresivo con forme se aumentó la dosis; con respecto a las ratas HY y LY; unicamente las ratas LY mostraron un aumento significativo en el numero de entradas a los brazos abiertos, en la dosis de 100 mg/Kg ($p < 0.05$, $t = 3.069$), en la dosis de 200 mg/Kg también mostro un aumento en el número de entradas con respecto al grupo control sin alcanzar significancia estadística, ($p = 0.06$, $t = 2.615$); por su parte las ratas HY mostraron el mayor aumento en el número de entrada a los brazos abiertos a la dosis de 100 mg/Kg sin mostrar resultados significativos.

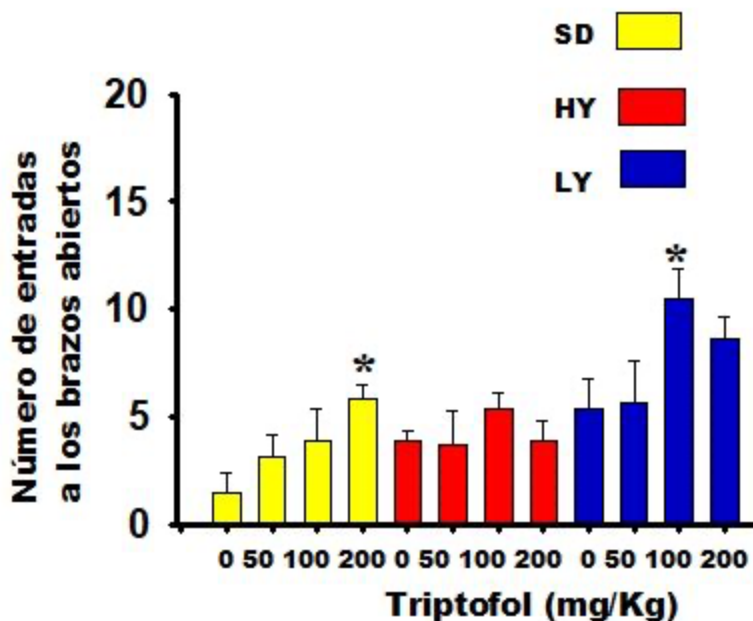


Fig 6. Número de entradas a los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en el número de entradas a los brazos abiertos, resaltando las dosis a las cuales se obtuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control (* $p < 0.05$).

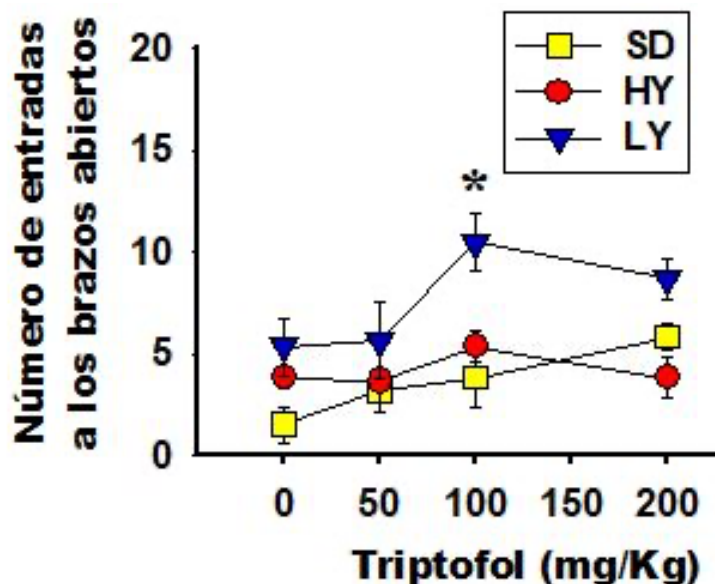


Fig 7. Número de entradas a los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol a cada dosis, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Tanto las ratas HY como LY mostraron un mayor número de entradas a los brazos abiertos que la cepa SD en el grupo control, sin ser significativa la diferencia, al comparar los grupos con las diferentes dosis las ratas LY resultaron presentar mayor número de entradas a los brazos abiertos, mostrando una diferencia significativa con respecto a las ratas HY y SD en la dosis de 100 mg/Kg ($p < 0.05$ en ambos casos, $t = 3.958$ contra HY y $t = 4.677$ contra SD).

En cuanto al número de entradas a los brazos cerrados, de igual forma se aplicó la prueba de ANOVA de dos vías, seguida del método de Holm-Sidak. Se mostró un decremento en las dosis de 100 mg/Kg y 200 mg/Kg tanto en las ratas HY, LY y SD, número de entradas a los brazos cerrados, sin embargo solo los grupos de ambas dosis correspondientes a las ratas LY mostraron diferencias significativas con respecto al grupo control ($p < 0.05$ en ambos casos, $t = 4.056$ para control contra la dosis de 100 mg/Kg y $t = 3.333$ contra la dosis de 200 mg/Kg).

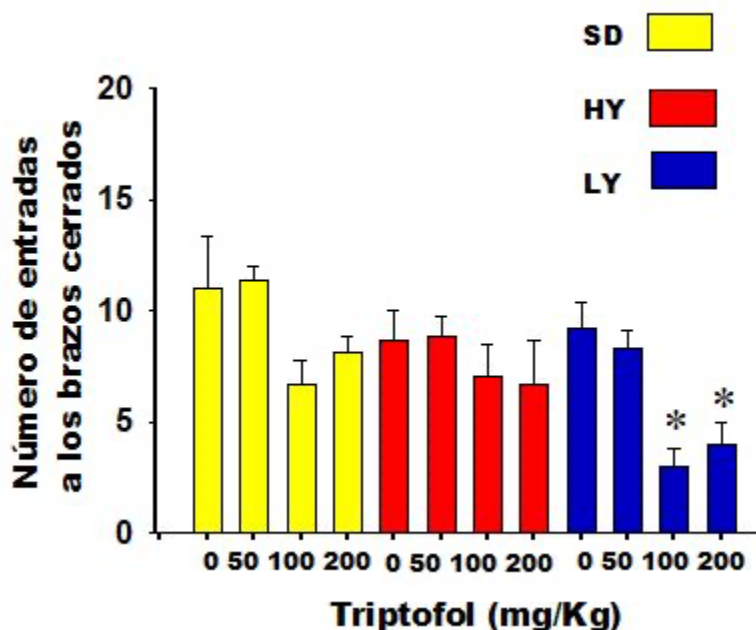


Fig 8. Número de entradas a los brazos cerrados de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en el número de entradas a los brazos cerrados, resaltando las dosis a las cuales se obtuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control (* $p < 0.05$).

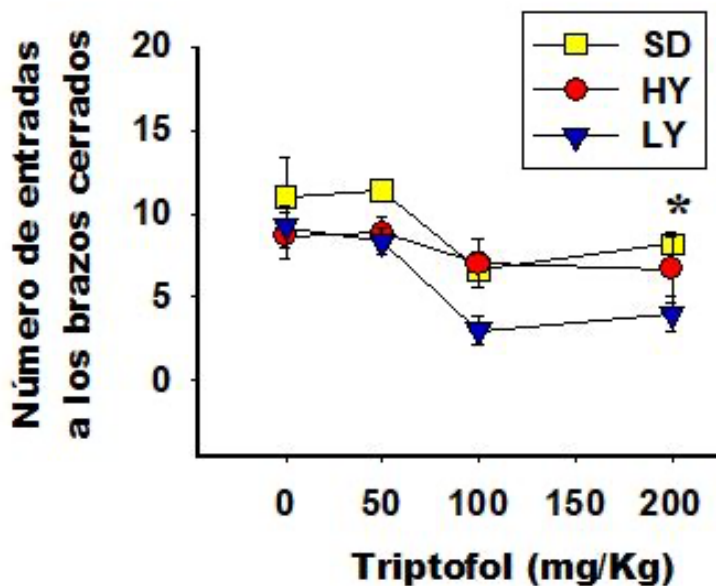


Fig 9. Número de entradas a los brazos cerrados de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol a cada dosis, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

En la comparación entre sublíneas, y con respecto a la cepa SD, solo se obtuvieron diferencias significativas entre la cepa SD y las ratas LY ($p < 0.05$, $t = 3.454$) al comparar los grupos correspondientes a la dosis de 200 mg/Kg, las ratas HY comparadas con los grupos de la cepa SD, no mostraron diferencias significativas en ninguno de los grupos ($p > 0.05$, $t = 1.636$) al comparar las sublíneas HY y LY no se obtuvieron diferencias significativas en ninguno de los grupos ($p > 0.05$, $t = 1.818$).

De igual modo se realizó la prueba de ANOVA de dos vías, seguida por el método de Holm-Sidak, al comparar el tiempo de estancia de las ratas HY, LY y de la cepa SD, tanto en los brazos abiertos como en los brazos cerrados. En el caso de las ratas HY, únicamente el grupo correspondiente a la dosis de 100 mg/Kg tuvo una diferencia significativa con respecto al grupo control ; ($p < 0.05$, $t = 2.8$), en las demás dosis de triptofol prácticamente no se observan diferencias en el tiempo de permanencia en los brazos abiertos; para la sublínea LY tanto los grupos correspondientes a la dosis de 100 mg/Kg como la dosis de 200 mg/Kg, mostraron una diferencia significativa ($p < 0.05$, $t = 3.313$ en el caso de la dosis 100 mg/Kg contra el grupo control, y $t = 3.429$ en el caso de la dosis de 200 mg/Kg)

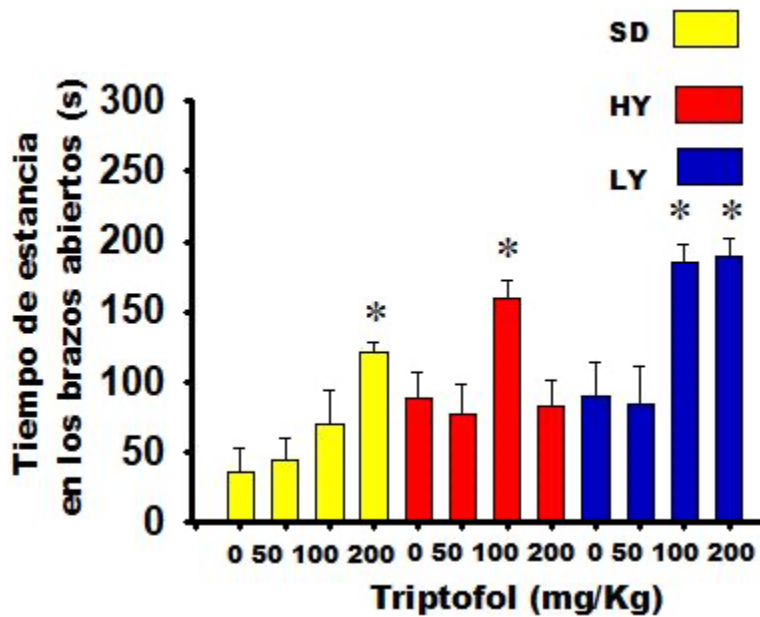


Fig 10. Tiempo de estancia en segundos en los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en el tiempo de de estancia en los brazos abiertos, resaltando las dosis a las cuales se obtuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control (* $p < 0.05$).

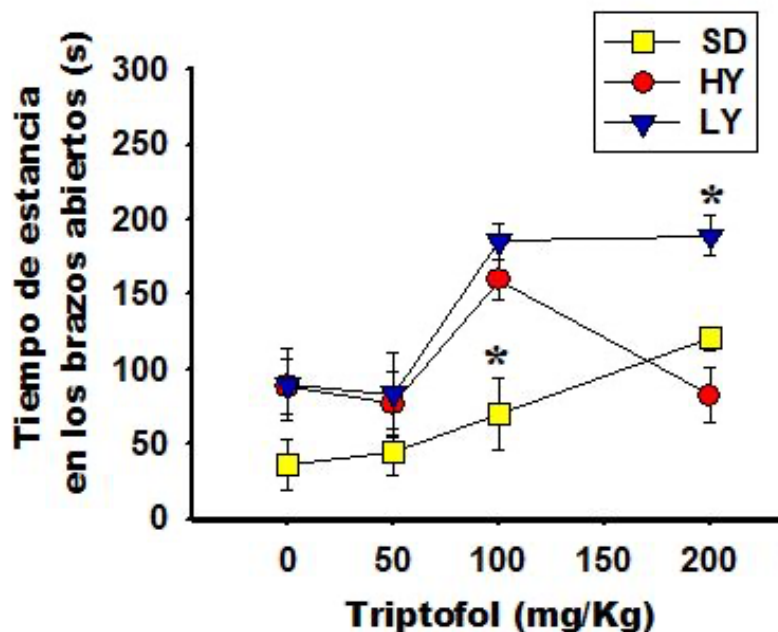


Fig. Tiempo de permanencia en los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol a

cada dosis, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Al comparar las sublíneas LY, HY y la cepa SD, se encontró una diferencia significativa entre ambas sublíneas y la cepa SD en la dosis de 100 mg/Kg, teniendo la cepa SD la menor media de estancia en los brazos abiertos ($p < 0.05$, $t = 4.734$ al comparar la cepa SD con la sublínea LY, y $t = 3.678$ al compararla con la sublínea HY), pero no entre las sublíneas HY y LY ($p > 0.05$, $t = 1.055$). Con respecto a la dosis de 200 mg/Kg la sublínea LY mostró la mayor media de permanencia en los brazos abiertos, siendo significativa tanto respecto a la cepa SD como la sublínea HY ($p < 0.05$, $t = 5.431$ con respecto a la sublínea HY, y $t = 3.482$ con respecto a la cepa SD), siendo la sublínea HY la que presentó la media más baja, al comparar los grupos de dicha dosis.

Respecto al tiempo de estancia en los brazos cerrados, al utilizar la prueba de ANOVA de dos vías no se consiguió un valor aceptable en la prueba de varianza, por lo que se prosiguió a utilizar una prueba de ANOVA por rangos seguida de una prueba de Tukey. Se muestra menor tiempo de estancia en los grupos tratados con 100 mg/Kg y 200 mg/Kg de TrpOH, en las sublíneas HY Y LY, y solo en la dosis de 200 mg/Kg en el caso de la cepa SD, al compararlos con sus respectivos grupos control, sin embargo únicamente el grupo de ratas LY que recibió una dosis de 200 mg/Kg mostro tener diferencias significativas ($p < 0.05$, $q = 4.215$).

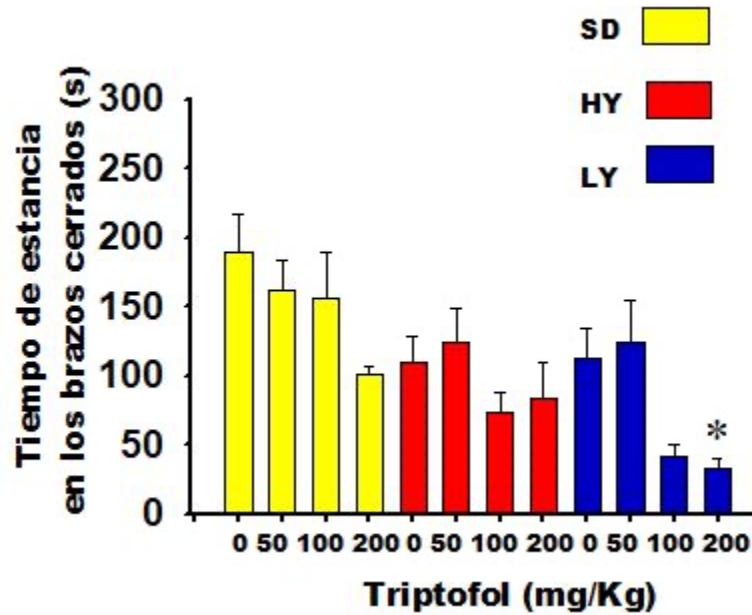


Fig 11. Tiempo de estancia en segundos en los brazos cerrados de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en el tiempo de de estancia en los brazos abiertos, resaltando las dosis a las cuales se obtuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control (*p<0.05).

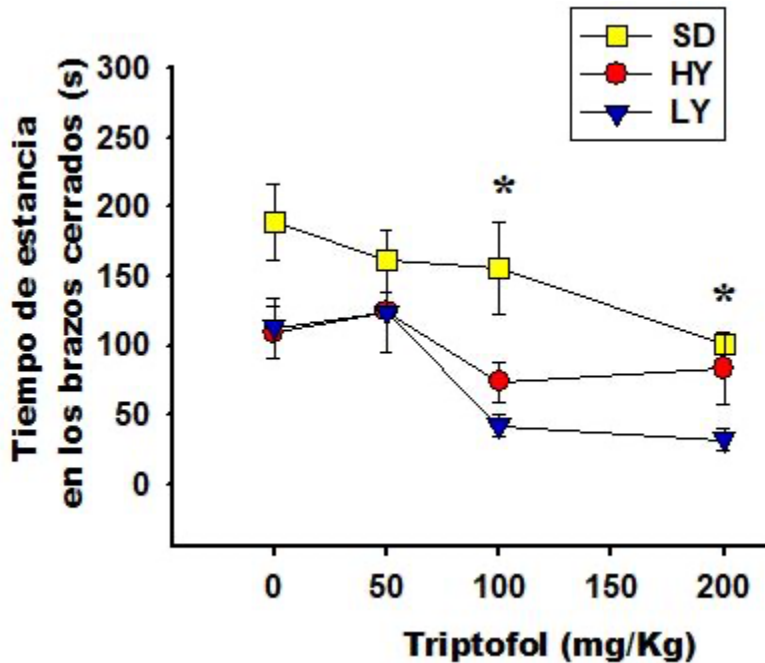


Fig 12. Tiempo de permanencia en los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol a cada dosis, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (*p<0.05).

Comparando el efecto de las diferentes dosis de TrpOH, en el tiempo de estancia en los brazos cerrados, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD, en la dosis de 100 mg/Kg se obtuvieron diferencias significativas al comparar la sublínea LY con las ratas SD ($p < 0.05$, $q = 4.588$)

En cuanto al tiempo de estancia en el centro del laberinto, a ninguna de las dosis se mostraron diferencias significativas, tanto para la cepa SD como para las sublíneas HY y LY ($p > 0.05$).

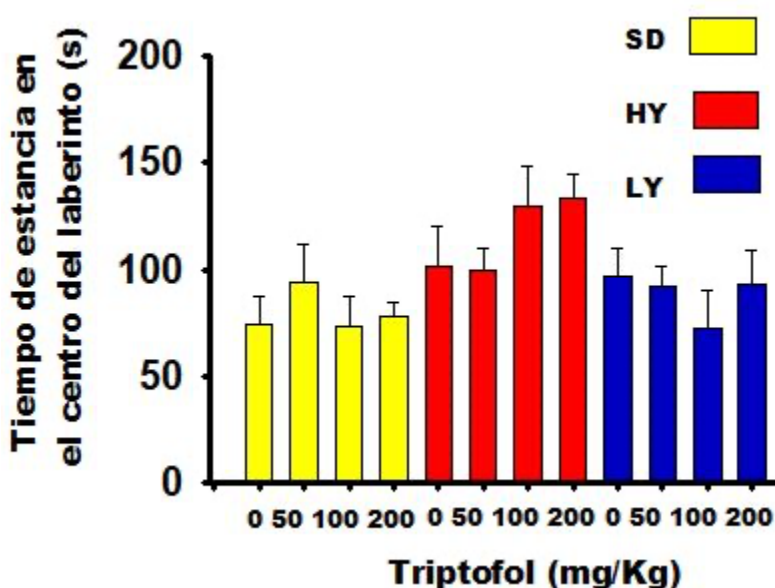


Fig 13. Tiempo de estancia en el centro LCE de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en el tiempo de estancia en el centro del LCE, resaltando las dosis a las cuales se obtuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control ($*p < 0.05$).

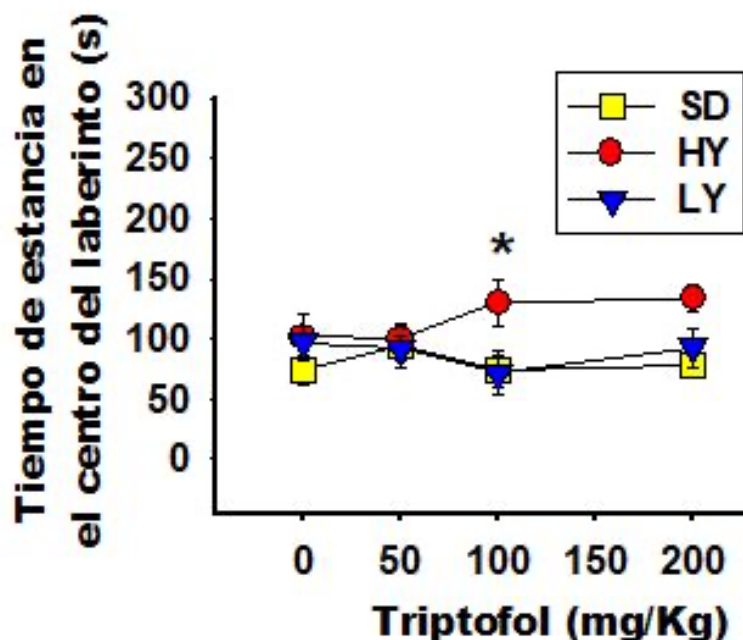


Fig 14. Tiempo de estancia en el centro del LCE de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol a cada dosis, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Comparando a las sublíneas HY, LY y la cepa SD, no se encontraron diferencias significativas entre la sublínea LY y la cepa SD a ninguna de las dosis ($p < 0.05$, $t = 0.842$); sin embargo la sublínea HY mostro el mayor tiempo de permanencia en el centro del LCE, alcanzando una diferencia significativa al comparar los grupos de la dosis 100 mg/Kg, con respecto tanto a la sublínea LY como la cepa SD ($p < 0.05$, $t = 2.701$ al comparar la sublínea HY con la sublínea LY, y $t = 3.544$ al comparar a las ratas HY con la cepa SD).

Al comparar el efecto de las diferentes dosis de triptofol en el tiempo de exploración por los bordes, se empleo una prueba de ANOVA de dos vías seguida del método de Holm-Sidak; unicamente el grupo de la dosis de 100 mg/Kg de las ratas de la sublínea LY, mostraron presentar diferencia significativa con respecto a su grupo control ($p < 0.05$, $t = 5.579$), por su parte las ratas SD y de la sublínea HY, no mostraron diferencias significativas en ninguno de sus grupos con respecto al grupo control, siendo la sublínea LY la que mostro mayor tiempo de exploración

por los bordes, mostrando diferencias significativas al comparar la dosis de 100 mg/Kg, comparada con los demás grupos LY ($p < 0.05$, $t = 5.579$ al compararlo con el grupo control, $t = 5.060$ con el grupo de la dosis de 50 mg/Kg, 4.314 con respecto a la dosis de 200 mg/Kg), de modo que, las ratas LY mostraron un decremento en el tiempo invertido en la exploración por los bordes al aumentar la dosis a 200 mg/Kg.

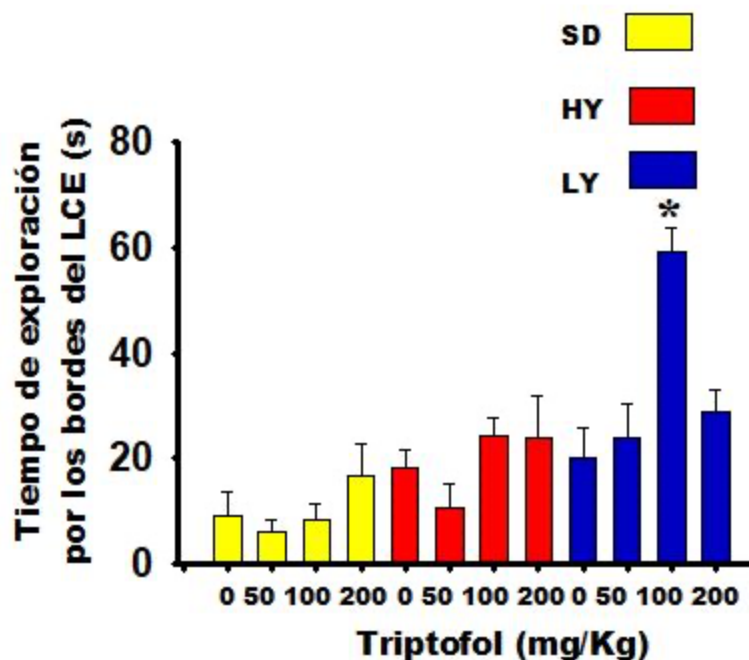


Fig 15. Tiempo invertido en la exploración por los bordes de los brazos abiertos del LCE de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en el tiempo invertido en la exploración por los bordes de los brazos abiertos del LCE, resaltando las dosis a las cuales se obtuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control ($*p < 0.05$).

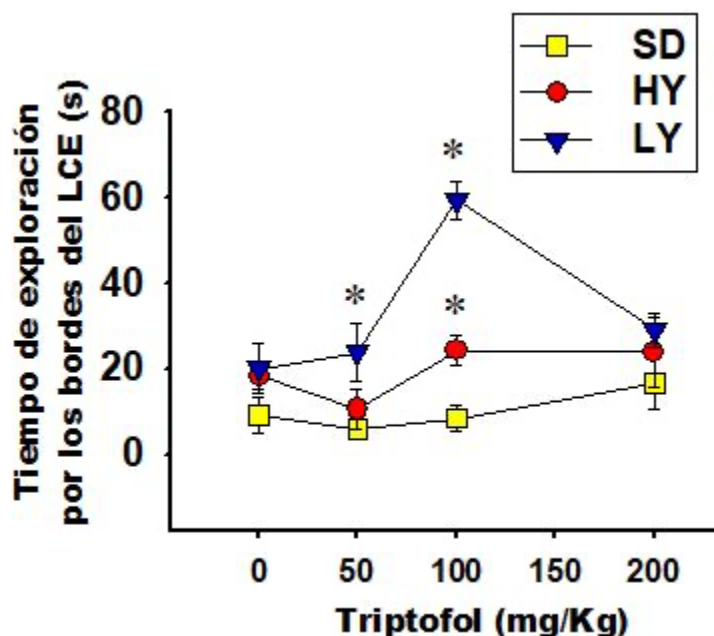


Fig 16. Tiempo invertido en la exploración por los bordes de los brazos abiertos del LCE, de las ratas HY, LY y SD, a las diferentes dosis de triptofol. En el gráfico se compara el efecto del triptofol a cada dosis, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD, se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Comparando los efectos del triptofol entre cada sublínea y la cepa SD a las diferentes dosis, se obtuvieron diferencias significativas al comparar los grupos de la dosis 50 de las ratas SD y LY ($p < 0.05$, $t = 2.518$), pero con las ratas HY en el grupo de esa misma dosis; referente a la dosis de 100 mg/Kg, las ratas de sublínea LY mostraron la media más alta de tiempo invertido en la exploración por los bordes, obteniendo diferencias significativas con respecto a las ratas HY y de la cepa SD ($p < 0.05$, $t = 7.243$ al comparar a las ratas LY con la cepa SD, $t = 4.992$ al compararlas con las ratas HY), en cuanto a las ratas HY mostraron una media más alta que las ratas de la cepa SD ($p < 0.05$, $t = 2.252$); en cuanto a la dosis de 200 mg/Kg, ninguno de los grupos presentó diferencias significativas ($p > 0.05$).

8.2 Efecto del triptofol en la actividad motora de las ratas HY, LY y la cepa SD en el ROTAROD

Para evaluar el efecto del triptofol en la actividad motora, se usó la prueba de ROTAROD, los datos se analizaron utilizando una prueba de ANOVA de dos vías, con respecto al tiempo total recorrido en el rodillo giratorio, los grupos mostraron tener una distribución no normal, por lo que se procedió a hacer uso de una prueba de ANOVA por rangos, comparando los diferentes grupos de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD, seguida de una prueba post-Hoc de Tukey, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los grupos control, y los correspondientes a las diferentes dosis administradas a las sublíneas HY, LY y la cepa SD.

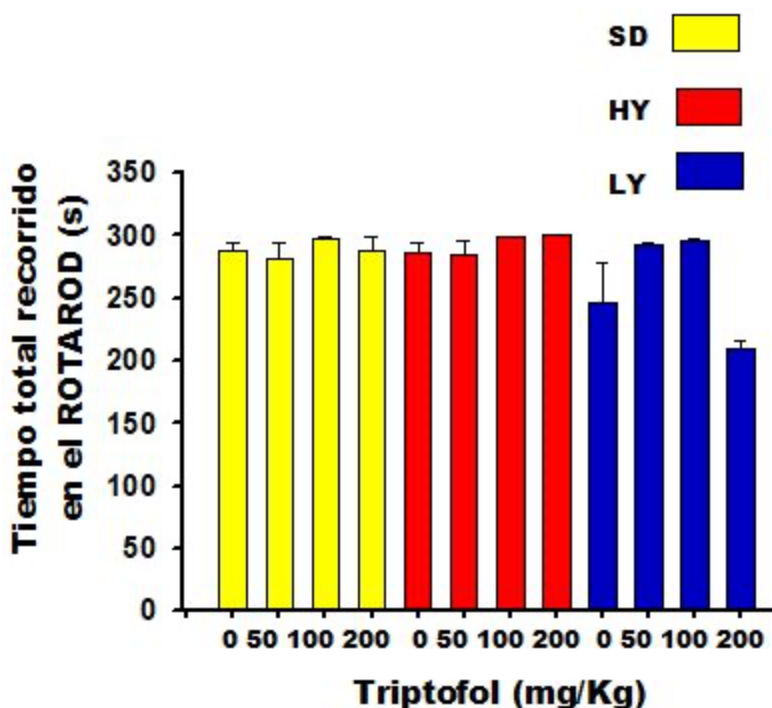


Fig 17. Tiempo total recorrido por las ratas HY, LY y SD en el ROTAROD. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en los grupos control y de las diferentes dosis administradas a las ratas HY, LY y SD (* $p < 0.05$)

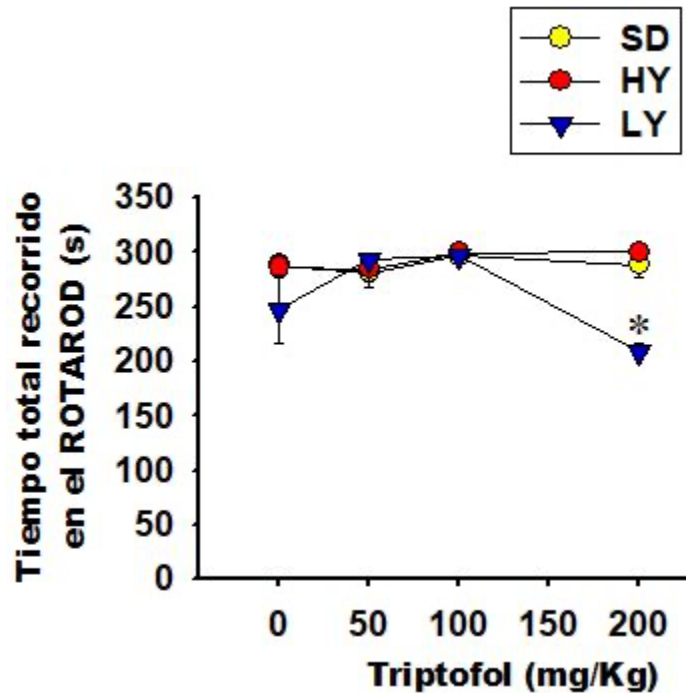


Fig 18. Tiempo total recorrido por las ratas HY, LY y SD en el ROTAROD. En el gráfico se compara el efecto del triptofol en el tiempo total recorrido en el ROTAROD, entre las ratas HY, LY y SD a las diferentes dosis administradas (* $p < 0.05$).

Comparando las sublíneas HY, LY y la cepa SD, las ratas LY tuvieron el menor recorrido en el ROTAROD, únicamente en el caso de la dosis de 200 mg/Kg se obtuvieron diferencias significativas con respecto al desempeño de las ratas HY y SD en la misma dosis ($p < 0.05$, $q = 4.282$ al comparar las ratas LY con la sublínea HY, y $q = 3.747$ al compararlas con la cepa SD).

Al evaluar el número de caídas del ROTAROD se utilizó una prueba de ANOVA de dos vías, obteniéndose una distribución no normal, por lo que se empleó una prueba de ANOVA por rangos seguida de una prueba de Tukey, si bien se observa una diferencia en la dosis de 200 mg/Kg de las ratas LY con respecto a los grupos de las demás dosis y el grupo control, la diferencia es significativa únicamente en su comparativa con el grupo que recibió la dosis de 100 mg/Kg ($p < 0.05$, $q = 4.503$); las ratas HY y SD no mostraron diferencias significativas en ninguno de sus grupos.

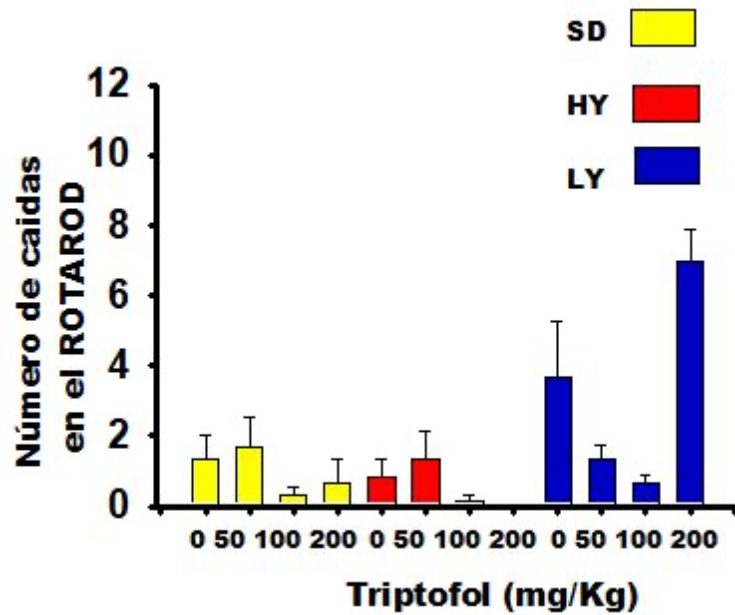


Fig 19. Número de caídas en el ROTAROD de las ratas HY, LY y SD. Se muestra la comparativa del efecto del triptodól en ell número de caídas en el ROTAROD, entre los grupos de las diferentes dosis administradas a las ratas HY, LY y SD.

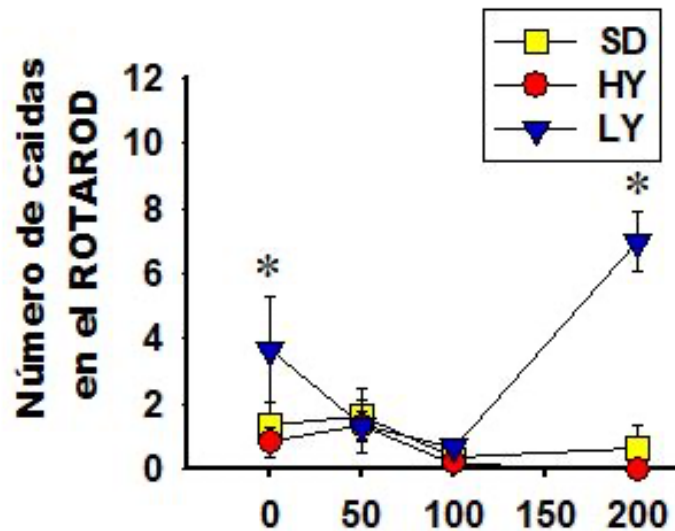


Fig 20. Número de caídas en el ROTAROD de las ratas HY, LY y SD. Se muestra la comparativa del efecto del triptofol en el número de caídas, entre las ratas HY, LY y SD en los grupos de las diferentes dosis.

En sus grupos control las ratas LY y HY mostraron tener diferencias significativas, siendo las ratas LY las que presentaron el mayor número de caídas en el ROTAROD ($p < 0.05$ $q = 3.938$), pero no al compararlas con la cepa SD, del mismo modo los grupos control de la cepa SD y las ratas HY no mostraron diferencias significativas, en las dosis de 50 mg/Kg y 100 mg/Kg no se alcanzó la significancia al comparar a las ratas HY, LY y SD; finalmente a la dosis de 200 mg/Kg las ratas LY presentaron tener diferencias significativas con respecto a las ratas HY y SD ($p < 0.05$, $q = 9.730$ al comparar LY con las ratas HY, y $q = 8.803$ al comprarlas con las ratas SD).

Sublínea y tratamiento (TrpOH, mg/Kg)	Número de entradas a los brazos abiertos	Número de entradas a los brazos cerrados	Tiempo de estancia en los brazos abiertos	Tiempo de estancia en los brazos cerrados	Tiempo de estancia el centro del LCE	Número de asomos por los bordes del LCE	Tiempo de asomo por los bordes en el LCE.	Número de caídas en el ROTAROD	Tiempo total recorrido en el ROTAROD
SD-DMSO	1.5±0.85	11±2.32	36.23±16.45	189.33±27.68	74.43±12.65	2.83±1.32	9.12±4.36	1.33±0.71	288.47±6.32
SD-50	3.17±1.01	11.33±0.06	44.05±15.64	161.50±22.18	94.44±17.80	3.33±1.02	6.03±2.48	1.66±0.84	281.36±13.25
SD-100	3.83±1.49	6.66±0.66	69.82±24.23	156.44±33.14	73.72±13.30	5.66±2.10	8.39±2.96	0.33±0.21	296.80±2.02
SD-200	5.83±0.60	8.16±1.05	120.7±7.65	101.45±5.23	77.80±6.72	6.16±1.66	16.53±6.21	0.66±0.66	288.61±11.38
HY-DMSO	3.83±0.48	8.66±1.35	88.41±18.20	109.83±18.42	101±19.07	7.83±1.19	13.38±3.13	0.83±0.47	286.07±8.79
HY-50	3.67±1.56	8.83±0.94	76.56±21.54	123.74±13.88	99.68±10.17	4.50±1.82	10.56±4.65	1.33±0.82	285.03±11.18
HY-100	5.33±0.76	7±1.46	159.84±12.913	73.76±13.88	129.90±18.36	15.66±2.34	24.22±3.46	0.166±0.166	299.27±0.7283
HY-200	3.83±1.01	6.66±2.01	82.48±18.42	83.81±26.39	133.69±11.26	6.00±1.54	23.88±8.04	0	300
LY-DMSO	5.33±1.43	9.16±1.24	89.52±24.47	113.12±21.77	97.35±12.99	8.83±2.72	20.09±5.83	3.66±1.60	247.05±30.99
LY-50	5.67±1.91	8.33±0.80	83.44±27.64	124.35±29.72	92.20±9.58	10.83±2.92	23.74±6.68	1.33±0.42	293.10±2.02
LY-100	10.50±1.38	3±0.81	185.66±12.00	42.33±7.53	72.00±18.50	34.66±4.45	59.32±4.46	0.66±0.21	296.24±1.29
LY-200	8.67±0.99	4±1	189.04±13.39	32.34±7.34	93.22±16.27	12.83±1.81	28.98±4.15	7±0.89	208.96±7.61

Tabla1. Resultados obtenidos de las variables evaluadas en el LCE. Los datos se presentan como la media de cada grupo ± EEM.

8.3 Comparativa de los efectos del triptofol y el 8-OH-DPAT en la ansiedad de ratas HY, LY y SD en el LC.E.

Con base en los resultados previamente obtenidos, se decidió omitir la dosis de 50 mg/Kg de TrpOH en la comparativa con el 8-OH-DPAT, comparando los efectos de ambos fármacos en aquellas variables en las cuales se obtuvieron resultados significativos con el tratamiento con TrpOH.

En cuanto al número de entradas a los brazos abiertos, se utilizó una prueba de ANOVA de dos vías, considerando como parámetros al tratamiento y las sublíneas HY, LY y la cepa SD, en la comparativa se priorizó el efecto obtenido con las dosis de 100 mg/Kg y 200 mg/Kg de TrpOH, y la administración de 0.1 mg/Kg de 8-OH-DPAT. Al comparar ambos tratamientos no se obtuvieron diferencias significativas en el número de entradas a los brazos abiertos de los grupos de 100 mg/Kg y 200 mg/Kg de TrpOH, y el grupo tratado con 8-OH-DPAT.

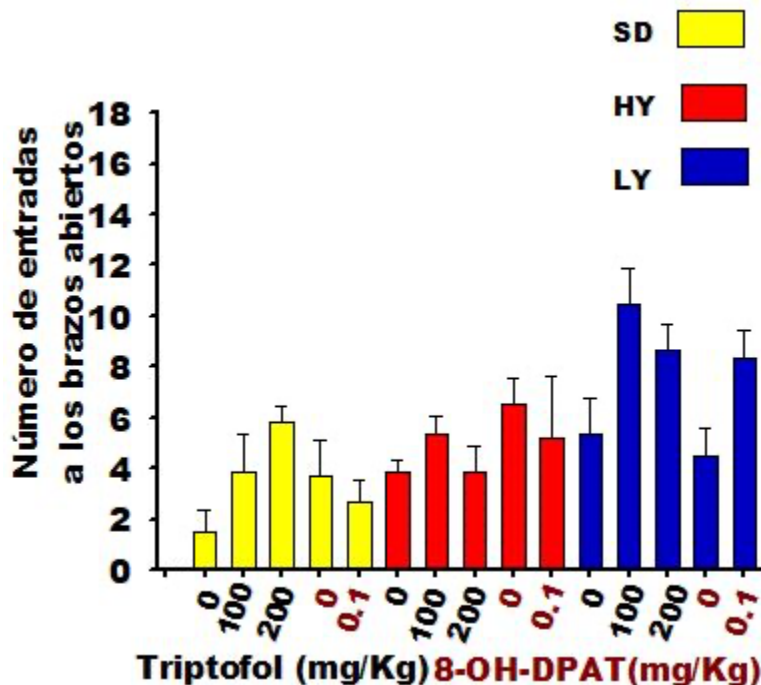


Fig 21. Número de entradas a los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del triptofol, a las dosis con mejores resultados contra el tratamiento con 8-OH-

DPAT, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

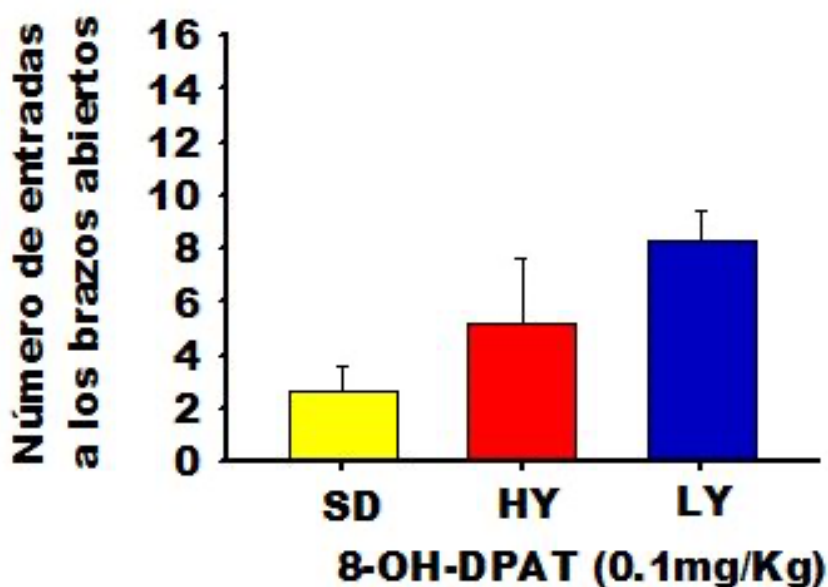


Fig 22. Número de entradas a los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del 8-OH-DPAT, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Comparando el efecto del 8-OH-DPAT entre las sublíneas HY y LY, y la cepa SD, se observa que las ratas LY mostraron mayor número de entradas a los brazos abiertos que las ratas SD y HY, sin embargo la diferencia no fue significativa ($p = 0.083$).

En cuanto a la comparativa del efecto de ambos fármacos en el número de entradas a los brazos cerrados, se hizo uso de una prueba de ANOVA de dos vías seguido del método de Holm-Sidak. No se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos que recibieron el tratamiento con TrpOH, y los grupos tratados con 8-OH-DPAT, sin embargo en el caso de la cepa SD se mostró un mayor número de entradas a los brazos cerrados en el grupo tratado con 8-OH-DPAT.

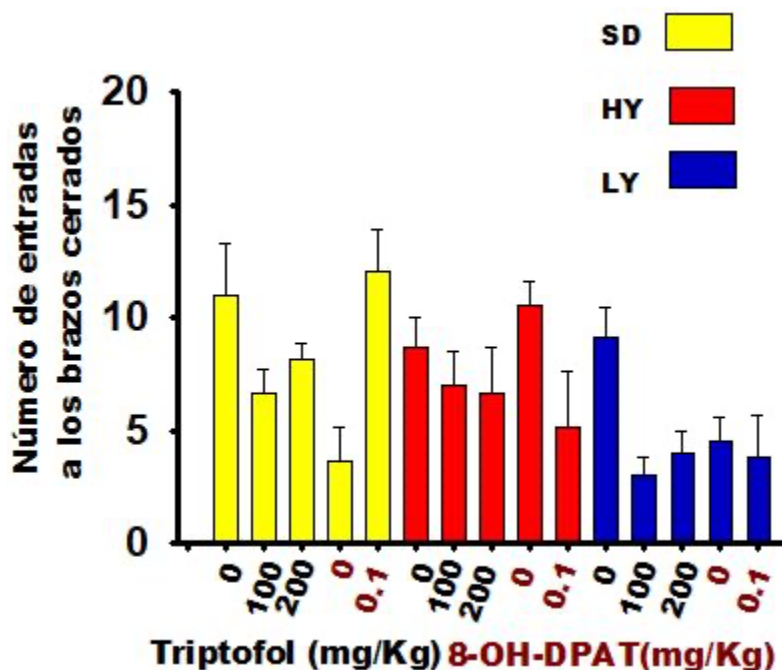


Fig 23. Número de entradas a los brazos cerrados de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del triptofol, a las dosis con mejores resultados contra el tratamiento con 8-OH-DPAT, se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

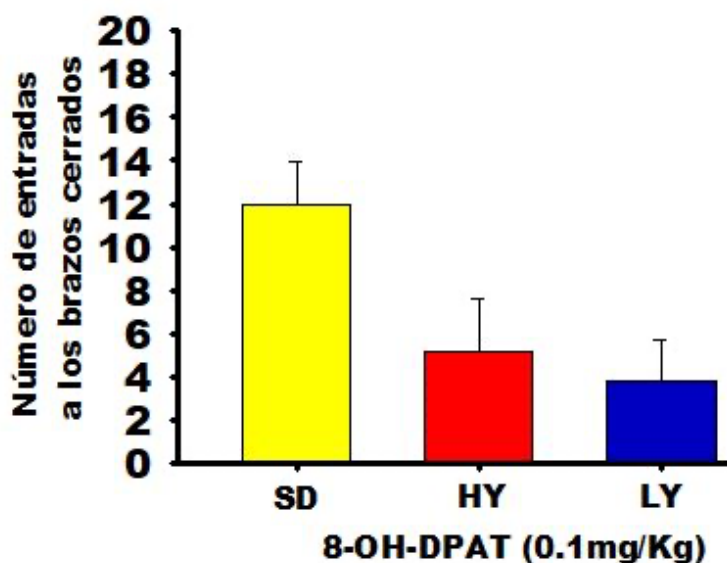


Fig 24. Número de entradas a los brazos cerrados de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del

8-OH-DPAT, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

En la comparativa del efecto del 8-OH-DPAT, las ratas SD mostraron tener un mayor número de entrada a los brazos cerrados, comparadas con las ratas HY y LY, sin embargo las diferencias entre los tres grupos no resultaron significativas ($p > 0.05$).

En cuanto al tiempo de estancia en los brazos abiertos, la sublínea HY mostraro tener menor tiempo de estancia en el grupo que recibió el tratamiento con 8-OH-DPAT, comparado con el grupo de la dosis de 100 mg/Kg teniendo diferencias significativas ($p < 0.05$, $t = 3.234$), pero no con respecto al grupo de la dosis de 200 mg/Kg; en el caso de la cepa SD se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos tratados con 8-OH-DPAT y el grupo que recibió la dosis de 200 mg/Kg, ($p < 0.05$, $t = 4.22$); en el caso de la sublínea LY no se encontraron diferencias entre los grupos tratados con TrpOH y 8-OH-DPAT.

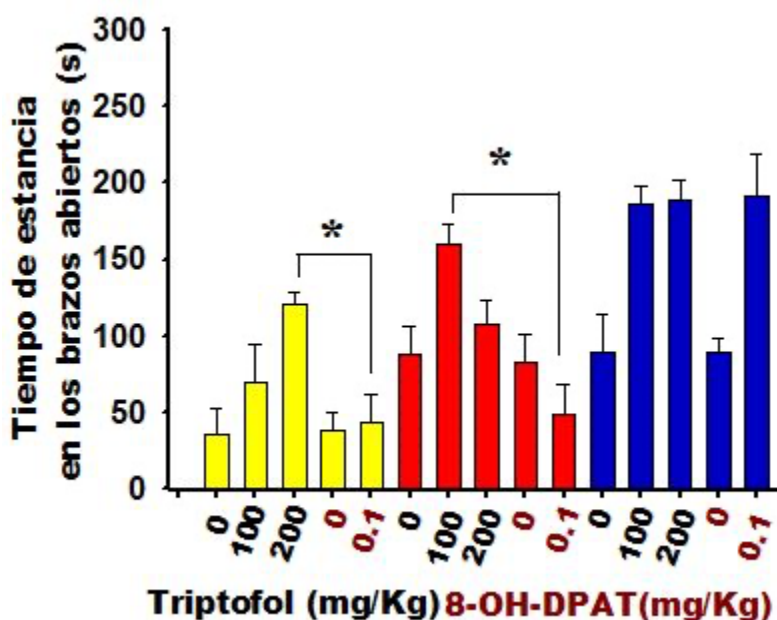


Fig 25. Tiempo de estancia en los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del triptofol, a las dosis con mejores resultados contra el tratamiento con 8-OH-DPAT, se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

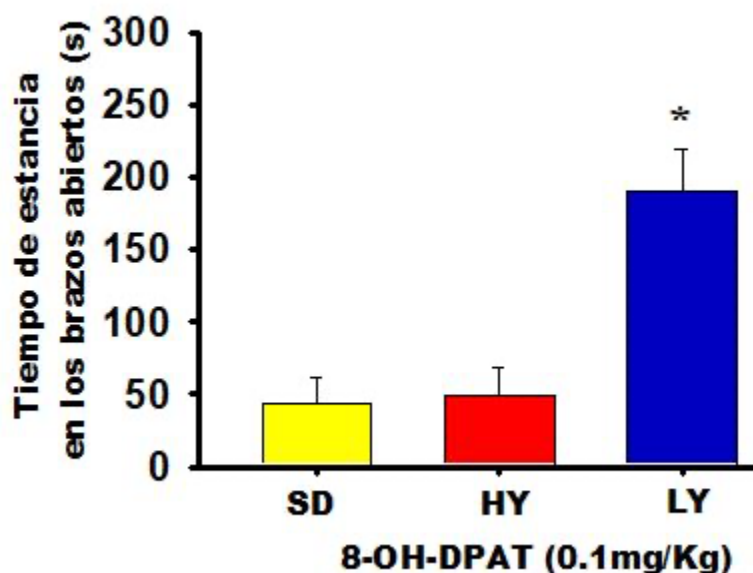


Fig 26. Tiempo de estancia en los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del 8-OH-DPAT, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Las ratas LY que recibieron el tratamiento con 8.OH-DPAT, pasaron más tiempo en los brazos abiertos que las ratas HY y SD, alcanzando diferencias significativas con ambos grupos ($p < 0.05$, $t = 4.689$ en el caso de las ratas SD, $t = 3.443$ en el caso de las ratas HY).

Con respecto al tiempo de estancia en los brazos cerrados al realizar la prueba de ANOVA seguida del método de Holm-Sidak, las ratas LY mostraron un menor tiempo de estancia en los brazos cerrados en el grupo tratados con 8-OH-DPAT que los grupos tratados con TrpOH, sin embargo no fue significativa; las ratas SD por su parte, el grupo tratado con 200 mg/Kg resultó ser el que tuvo menor tiempo de estancia en los brazos cerrados, sin embargo al compararse con el grupo tratado con 8-OH-DPAT, no obstante las diferencias no fueron significativas. Las ratas de la sublínea HY tratadas con 8-OH-DPAT, resultaron ser las que tuvieron mayor tiempo de permanencia en los brazos cerrados, resultando tener diferencias significativas comparado con los grupos tratados con TrpOH ($p < 0.05$, $t = 4.091$ con el grupo de 100 mg/Kg, y $t = 3.694$ en el grupo de 200mg/Kg).

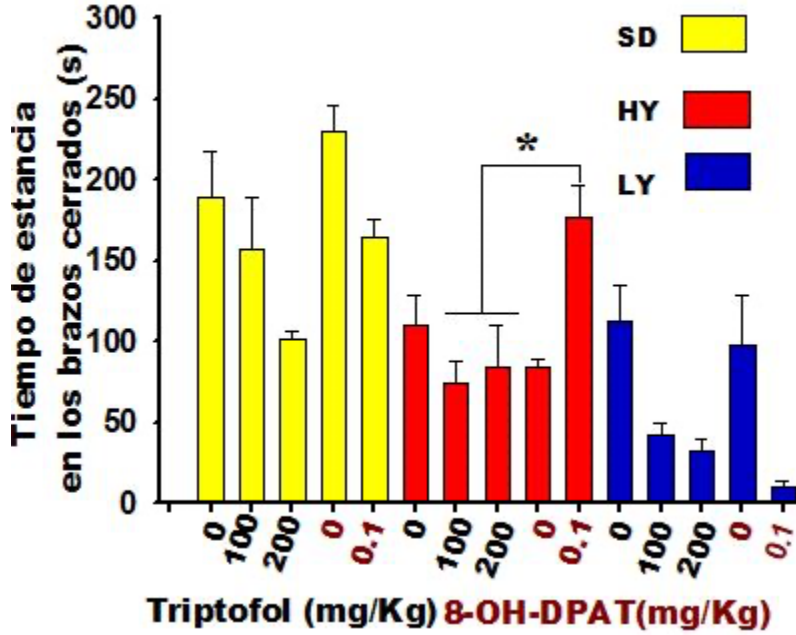


Fig 27. Tiempo de estancia en los brazos cerrados de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del triptofol, a las dosis con mejores resultados contra el tratamiento con 8-OH-DPAT, se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

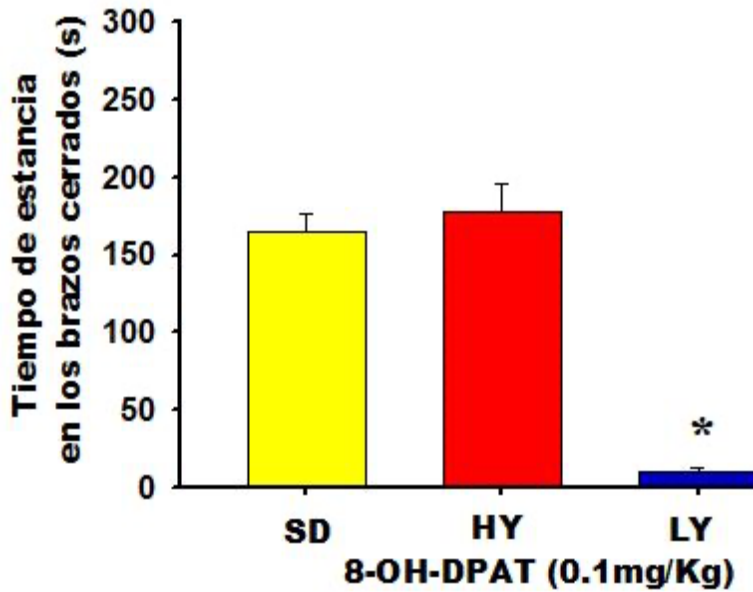


Fig 28. Tiempo de estancia en los brazos abiertos de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del 8-OH-DPAT, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Comparando los grupo de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD, tratados con 0.1 mg/Kg de 8-OH-DPAT, no se obtuvieron diferencias entre las ratas SD y HY, sin embargo las ratas LY fueron las que pasaron menor tiempo en promedio en los brazos cerrados ($p < 0.05$ $t = 9.335$ en la comparación con las HY, y $t = 8.643$ comparadas con las ratas SD).

En la comparación del tiempo de exploración por los bordes de los brazos abiertos, fallo la prueba de normalidad, por lo que se optó por utilizar la prueba de ANOVA por rangos seguida de la prueba de Tukey; las ratas SD no mostraron diferencias entre los grupos tratados con TrpOH y 8-OH-DPAT; en el caso de las ratas LY tampoco se obtuvieron diferencias significativas, teniendo un comportamiento similar entre el grupo tratado con 8-OH-DPAT y el grupo que recibió 100 mg/Kg de TrpOH; por su parte las ratas de la sublínea HY mostraron de manera significativa un menor tiempo de exploración por los bordes en su grupo que recibió el tratamiento con 8-OH-DPAT comparado con los grupos de tratamiento con TrpOH ($p < 0.05$, $q = 4.869$ en la comparación con el grupo de 100 mg/Kg, y $q = 4.081$ en la comparación con el grupo de 200 mg/Kg).

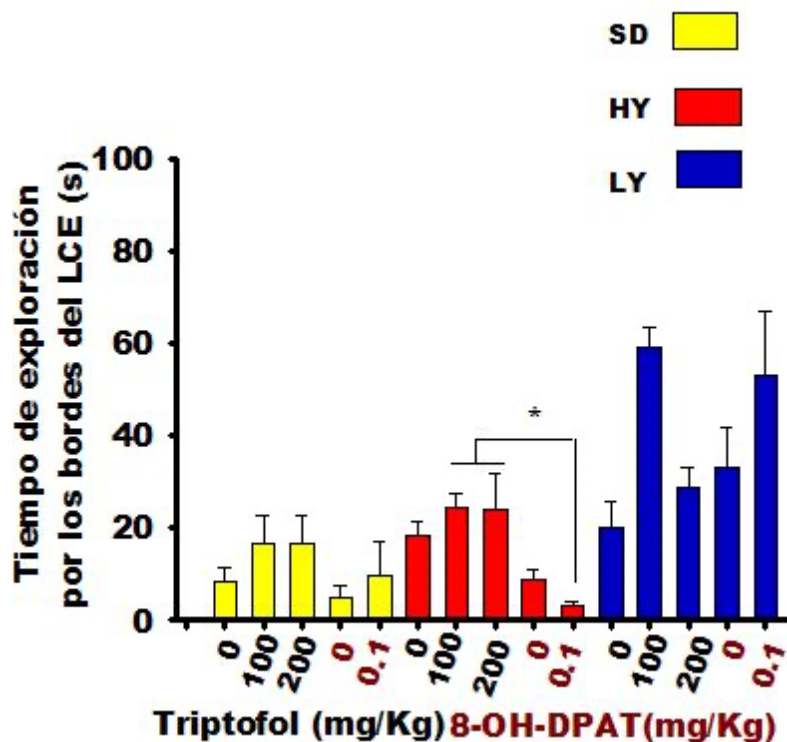


Fig 29. Tiempo de exploración por los bordes de los brazos abiertos, de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del triptofol, a las dosis con con mejores resultados contra el tratamiento con 8-OH-DPAT, se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

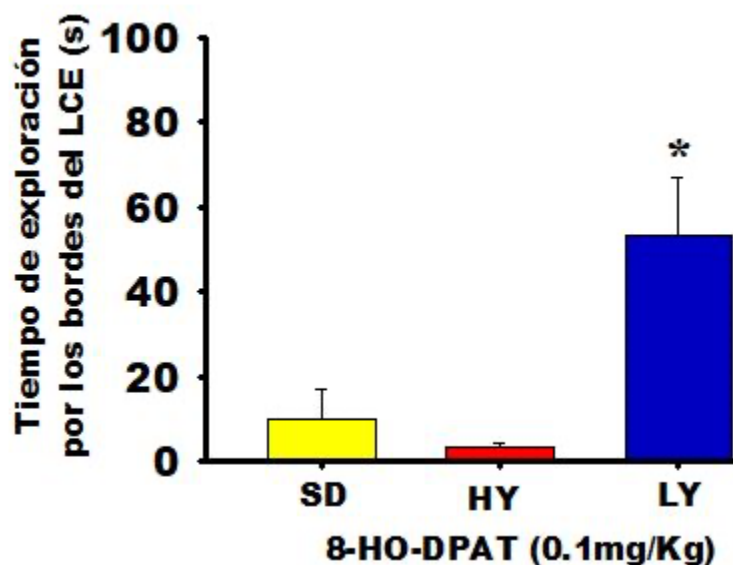


Fig 30. Tiempo de exploración por los bordes de los brazos abiertos, de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del 8-OH-DPAT, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Al comparar los grupos tratados con 0.1 mg/Kg de 8-OHDPAT, no se encontraron diferencias entre la sublínea HY y la cepa SD; por su parte la sublínea LY mostró el mayor tiempo de exploración por los bordes, alcanzando la significancia con respecto a los grupos de las ratas SD y HY ($p < 0.05$, $q = 4.015$ en la comparación con las ratas HY, y $q = 3.556$ con las ratas SD)

En la prueba de ROTAROD, se realizó la comparativa del número de caídas durante la prueba, se utilizó una prueba de ANOVA de dos vías, al fallar la prueba de normalidad se prosiguió a utilizar la prueba de ANOVA por rangos seguida de una prueba de Tukey. Las ratas SD mostraron un mayor número de caídas del rotarod en el grupo que recibió el tratamiento con 8-OH-DPAT, comparado con el resto de los grupos, sin embargo las diferencias no fueron significativas; en el caso de las

ratas HY presentaron un número similar de caídas entre los grupos control del TrpOH y la dosis de 0.1 mg/Kg de 8-OH-DPAT, sin embargo las diferencias no fueron significativas con el resto de los grupos. Las ratas LY mostraron el menor número de caídas en la dosis de 100 mg/Kg comparado con el resto de los grupos, alcanzando diferencias significativas, como se explico previamente ($p < 0.05$, específicamente con el tratamiento de 8-OH-DPAT $q = 4.081$)

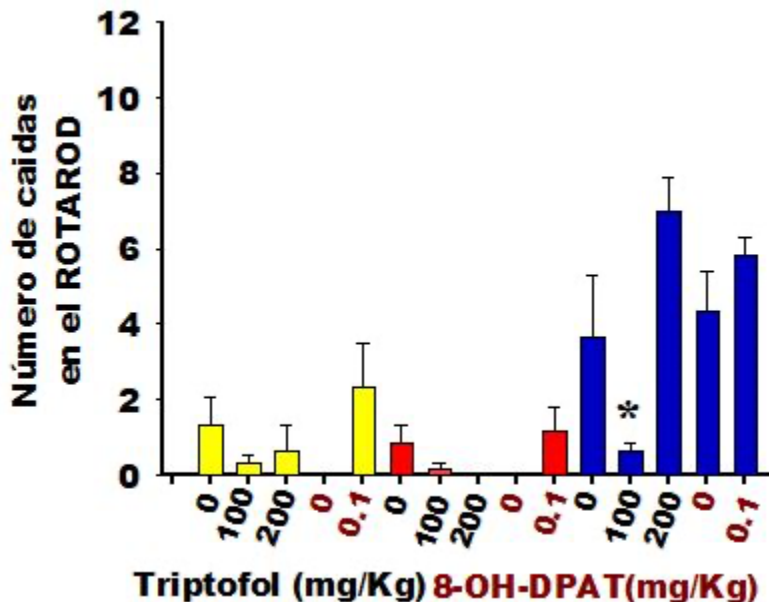


Fig 31. Número de caídas del ROTAROD de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del triptofol, a las dosis con con mejores resultados contra el tratamiento con 8-OH-DPAT, se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas ($*p < 0.05$).

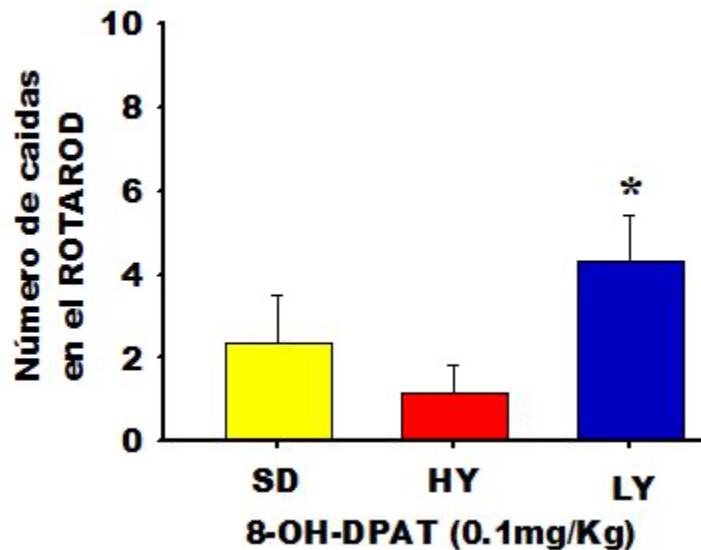


Fig 32. Número de caídas del ROTAROD, de las ratas HY, LY y SD, tras la administración de TrpOH y 8-OH-DPAT. En el gráfico se compara el efecto del 8-OH-DPAT, entre las sublíneas HY, LY y la cepa SD se resaltan las dosis en las cuales se obtuvieron diferencias significativas (* $p < 0.05$).

Los grupos de ambas sublíneas y de la cepa SD, que recibió el tratamiento de 8-OH-DPAT, las ratas LY mostraron diferencias significativas con respecto a las ratas HY y SD ($P < 0.05$ $q = 4.008$ y $q = 3.006$ respectivamente).

Sublínea y tratamiento 8-OH-DPAT (0.1mg/Kg)	Número de entradas a los brazos abiertos	Número de entradas a los brazos cerrados	Tiempo de estancia en los brazos abiertos	Tiempo de estancia en los brazos cerrados	Tiempo de asomo por los bordes en el LCE	Número de caídas del ROTAROD
SD CTR	3.66±1.47	3.66±1.47	37.94±12.62	229.65±15.99	5.03±2.56	0
SD (0.01 mg/Kg)	2.66±0.88	12±1.91	43.28±18.72	164.97±11.11	9.78±7.19	2.33±1.17
HY CTR	6.5±1.05	10.5±1.08	82.48±18.42	84.49±5.09	8.97±1.91	0
HY (0.01 mg/Kg)	5.1±2.4	5.16±2.46	49.12±19.35	177.33±18.64	3.13±1.07	1.16±0.5
LY CTR	4.5±1.05	4.5±1.05	89.69±8.86	98.07±30.91	33.29±8.73	4.33±1.08
LY (0.01 mg/Kg)	8.33±1.08	3.83±1.86	190.85±28.21	10.63±2.70	53.2±13.69	5.83±0.47

Tabla2. Resultados obtenidos de las variables evaluadas en el LCE y el rotarod. Se expone la media de los grupos tratados con 0.1 mg/Kg de 8-OH-DPAT, y su correspondiente grupo control ± EEM.

9. Discusión

Actualmente la prueba de LCE, es uno de los protocolos más utilizados en el estudio de la ansiedad en roedores, y el efecto farmacológico de compuestos ansiolíticos, se ha demostrado que la exposición a ambientes novedosos en periodos cortos como es el caso en la prueba de LCE, es suficiente para generar un aumento en la liberación de 5-HT y un decremento en su recaptura (Campos y cols., 2013) , a través de la evaluación de la entrada a los brazos abiertos o cerrados y el tiempo de permanencia en los mismos, además de evaluar también conductas como la exploración vertical, el aseo o el freezing, las cuales son indicativas de ansiedad (Estanislau., 2012). En este estudio se tomaron en cuenta, el tiempo y número de entradas a cualquiera de los brazos, la permanencia en el centro del laberinto y los asomos por los bordes de los brazos abiertos; no se considero el aseo ni el freezing, ya que pocos sujetos mostraron dichas conductas imposibilitando su análisis estadístico; de igual forma la estancia en el centro del laberinto no arrojó ninguna diferencia entre los grupos por lo que se descartó en la comparativa entre los grupos de ambos tratamientos, TrpOH y 8-OH-DPAT.

Si bien en su mayoría no son significativas, se perciben diferencias entre ambas sublíneas HY y LY, en su desempeño en el LCE con respecto a la cepa SD en sus grupos control, mostrándose las ratas SD más ansiosas, datos que coinciden con lo observado por Uribe (2010) y Días (datos no publicados).

Moyaho y cols ., (1995), señalaron que las ratas LY resultan ser menos resilientes y tienden a presentar más conductas ansiosas, comparadas con las ratas HY, teniendo como ejemplo su conducta en la prueba de campo abierto, en la cual Uribe en 2010 demostró que las ratas HY presentan mayor latencia de cruce por el centro del campo, del mismo modo Uribe (2010) observó un mayor número de entradas de las ratas HY en los brazos abiertos en la prueba de LCE, sugiriendo que son menos sensibles a este estímulo. En el presente estudio en el LCE no se observaron diferencias significativas entre los grupos control de ambas sublíneas.

Los resultados obtenidos muestran una clara diferencia del efecto del TrpOH, entre las sublíneas LY y HY y las ratas SD, si bien en la dosis de 50 mg/Kg no se muestra un efecto sobre las conductas ansiosa, en la dosis de 100 mg/Kg se aprecia un decremento en la realización de dichas conductas. Se obtuvo un incremento en la preferencia por los brazos abiertos frente a los cerrados, siendo las ratas SD las únicas que no tuvieron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento y su grupo control; a excepción del grupo que recibió 200 mg/Kg de TrpOH. si bien las ratas HY no mostraron un incremento significativo en el número de entradas, si lo mostraron en el tiempo de estancia, variable que en años recientes se ha tomado más en cuenta que el número de entradas (Walf y Frye., 2007), indicando que permanecieron intervalos más largos de tiempo en cada una de sus entradas a los brazos abiertos, sin embargo al comparar el tiempo de estancia en el centro se observa que a las ratas HY les tomó más tiempo la toma de decisión entre cada una de las dos zonas (los brazos abiertos y los brazos cerrados), teniendo una menor actividad en el laberinto.

En la dosis de 200 mg/Kg se observa una diferencia significativa para las ratas SD y LY con respecto a sus grupos control, teniendo un decremento en la estancia y el número de entradas con respecto a sus grupos control, teniendo una diferencia significativa en el caso de las LY en ambos parámetros, y una diferencia significativa en el tiempo de estancia en los brazos cerrados para el caso de las ratas SD, además de un incremento en el tiempo de estancia en los brazos abiertos así como el número de entradas a los brazos cerrados, sin embargo en las ratas HY no se percibió una respuesta igual de favorable como la obtenida con la dosis de 100 mg/Kg.

Al comparar los asomos por los bordes, se observa un incremento significativo en el caso de las ratas LY en la dosis de 100 mg/Kg, siendo un indicativo de actividad exploratoria y por lo tanto de la disminución de ansiedad (Braun y cols., 2011), si bien las ratas HY no presentan diferencias significativas, si se observa un incremento con respecto al grupo control en el tiempo de exploración por los bordes del laberinto.

Al comparar los grupos con tratamiento de TrpOH se obtuvo la respuesta más favorable en la dosis de 100 mg/Kg, al duplicar dicha dosis no se obtuvo diferencia en los efectos del compuesto sobre la ansiedad, por lo menos para las ratas LY y SD, de modo que, si bien su respuesta parece escasa a bajas dosis, al llegar a una concentración determinada del compuesto, aumentar la dosis de este no parece tener efectos relevantes en su comportamiento en el LCE. Sin embargo, en el caso de las ratas HY su respuesta ha demostrado ser completamente dosis dependiente, ya que a los valores mínimos aplicados no parece tener una respuesta al tratamiento, al otorgar una dosis de 100 mg/Kg se obtiene un mejor desempeño en el LCE teniendo menos conductas relacionadas con la ansiedad, sin embargo al duplicar la dosis se percibe como disminuyen los efectos ansiolíticos teniendo un comportamiento más similar al presentado por los grupos control; probablemente exista una saturación del sistema en dicha dosis ya que en el grupo de las ratas HY tras aplicar el tratamiento dentro de los primeros 20 minutos algunos individuos presentaron ataxia antes de caer bajo los efectos somníferos del compuesto.

Con respecto a los resultados obtenidos en los grupos que recibieron el tratamiento con 8-OH-DPAT, se obtuvo un aumento en las conductas que indican una disminución el comportamiento ansioso en el caso de las ratas LY, la latencia en la entrada a los brazos abiertos, y un incremento en el tiempo de exploración por los bordes del laberinto, y un decremento en las conductas relacionadas con la ansiedad, la entrada y estancia en los brazos cerrados, teniendo una diferencia significativa con respecto a su grupo control, sin embargo los resultados no arrojan una diferencia con respecto al efecto obtenido con las dosis que resultaron efectivas de TrpOH, sin embargo en las ratas SD no parece haber tenido efecto sobre la ansiedad, al no encontrarse diferencias significativas teniendo resultados similares a los obtenidos con la dosis de 100 mg/Kg de TrpOH. El caso de las ratas HY resulta curioso, ya que al compararse los efectos sobre la conducta en el LCE, con respecto a los grupos tratados con dosis de 100 mg/Kg y 200 mg/Kg de TrpOH, se observa un decremento en la realización de conductas asociadas con un efecto ansiolítico, la permanencia y el número de entradas a los brazos abiertos y el tiempo de exploración por los bordes, y un incremento en la entrada y el tiempo de estancia

en los brazos cerrados; resultando tener diferencias significativas; inclusive al compararlo con su grupo control se observa la misma tendencia aún cuando las diferencias no alcanzan la significancia, indicando un efecto ansiogénico por parte del 8-OH-DPAT administrado en una dosis de 0.1 mg/Kg (Braun y cols., 2011).

De forma general los resultados obtenidos demuestran que el tratamiento con fármacos con actividad agonista, el TrpOH y el 8-OHDPAT, tienen un efecto diferente en la ansiedad entre las ratas SD, LY y HY, de modo que las ratas SD resultan ser más ansiosas que las sublíneas HY y LY, además de que las ratas LY presentan una respuesta más favorable al tratamiento con respecto a las ratas SD y HY, siendo la sublínea HY la que presenta una respuesta más divergente al tratamiento dependiendo de la dosis.

En otros estudios similares realizados con modelos murinos obtenidos a través de técnicas de cruce endógamo, para la obtención de subpoblaciones con características fenotípicas divergentes, se han obtenido resultados diferentes entre ambos grupos utilizando un tratamiento con compuestos serotoninérgicos; Chaouloff y cols., (1995) realizaron un estudio con ratas Fisher 344 y ratas Lewis, conocidas por sus diferencias en su reactividad emocional, demostraron diferencias en la expresión tanto del receptor 5-HT_{1A}, como de CRH y ACTH entre ambas subpoblaciones, demostrando que las ratas Lewis presentan una hipoactividad del eje HPA y menor expresión del receptor 5-HT_{1A} en el HC; de igual forma dichas diferencias fueron reportadas en las ratas Roman LAB (low avoidance) y HAB (high avoidance) (Kulikov y cols., 1995), dados los resultados se presume una probable diferencia en la expresión de los receptores 5-HT_{1A} en el caso de las ratas HY, LY y SD, ya se demostró en trabajos previos por Uribe (2010), que las ratas LY tienden a presentar un mayor pico en la concentración de COT, además de una dispersión más rápida que las HY al someterlas a restricción de movimiento, indicando una diferencia en la actividad del eje HPA entre ambas ratas, la expresión de receptores específicos de manera diferente entre ambas sublíneas ya se ha demostrado previamente, a través del estudio de la participación de los receptores dopaminérgicos D₁ y D₂, en las conductas de bostezo y aseo en las ratas HY y LY,

Eguibar y cols ., (2002) demostraron que el tratamiento farmacológico dirigido a dichos receptores genera un efectos diferentes entre ambas sublíneas de ratas, indicando que su expresión se da de manera distinta entre las ratas HY y LY. La interacción entre el eje HPA y las células serotoninérgicas de regiones como el HP y la AM es clave en el desarrollo de la respuesta al estrés, además de que el Hp es participe en la mediación de los efectos ansiolíticos de los agonistas al receptor 5-HT1A y los benzodiazepinas (Kagamiishi y cols., 2003).

Basándonos en los resultados obtenidos y los antecedentes existentes sobre la expresión de otros sistemas en ambas sublíneas, se infiere que diferentes sistemas neuronales podrían estar expresándose de forma diferente entre los tres tipos de fenotipos, las ratas HY, LY y SD, lo cuál permite explicar la diferencia en su conducta en la prueba de LCE. Por lo menos en el caso de la expresión de los receptores 5-HT1A parecen expresarse menos en las ratas HY que en las ratas LY, ya que el sistema tiende saturarse más rápido a las mismas concentraciones de TrpOH y 8-OH-DPAT, mostrando mayor sensibilidad a la variación en la dosis otorgada de triptofol, por lo menos en regiones neuronales participes en la respuesta al estrés causado por el LCE, tales como el HC y la AM. Mientras que por su parte las ratas LY muestran una mejor respuesta, y esta parece mantenerse inclusive en la máxima dosis aplicada en este estudio, así como el tratamiento con 8-OH-DPAT por lo que probablemente no se alcance la saturación de los receptores a estas dosis. Al comparar ambas sublíneas con la cepa SD se denota mayor tolerancia por parte de las ratas SD al tratamiento con TrpOH, de modo que la mejor respuesta al tratamiento se obtuvo con la dosis de 200 mg/Kg de TrpOH, al comparar los resultados obtenidos con el grupo que recibió 0.1mg/Kg de 8-OH-DPAT, el tratamiento con el agonista total no genero una respuesta ansiolítica como si ocurrió en el caso de las ratas LY.

Al comparar ambos compuestos se observa la diferencia en la respuesta de cada tipo de rata, de modo que los efectos son similares entre los grupos de 200 mg/Kg de Trp y 0.1mg/Kg de 8-OHDPAT tanto para las ratas HY, como las ratas LY, sin embargo, las ratas SD no respondieron favorablemente al agonista total, con base en los resultados obtenidos el triptofol demostró presentar un comportamiento como

agonista parcial, y tener efecto ansiolítico, teniendo ventajas sobre un agonista total como el 8-OH-DPAT, teniendo una ventana amplia con respecto a la dosis respuesta y teniendo un efecto a mayor plazo por lo menos en dosis aguda, dando resultados positivos después de 16h de su administración.

Basándose en los resultados obtenidos en la prueba de ROTAROD, no parece generar complicaciones en el desempeño motor de las ratas después de 16h de la administración del fármaco, en general el desempeño de las ratas no vario de forma significativa entre los grupos de tratamiento, no obstante en el caso de las ratas LY, se presentó un mayor número de caídas del ROTAROD, de forma normal por la media mostrada en los grupos se podría esperar un efecto en la resistencia física de los animales en la prueba, sin embargo en el grupo control el comportamiento también se mostro deficiente con respecto a las ratas HY y LY únicamente obteniendo mejoras en el caso de las ratas LY tratadas con 100 mg/Kg de TrpOH. Las ratas LY presentan un desempeño deficiente comparado con las ratas SD y HY en el rotarod inclusive comparando los grupos control, si bien el número de caídas no indica una deficiencia notoria en su conducta motora, si es indicativo de menor resistencia en dicha prueba, sin embargo, se denota mejoría en dicho apartado el grupo de TrpOH de 100 mg/Kg.

10. Conclusiones

1. El triptofol genera un efecto ansiolítico administrado de forma agua en las ratas HY, LY y SD de forma dosis dependiente, en el LCE aumentando el tiempo de estancia en los brazos abiertos y disminuyendo su tiempo de permanencia en los brazos cerrados.
2. De acuerdo con la respuesta a ambos tratamientos se presume que los receptores 5-HT_{1A} se expresan de forma diferente entre las ratas HY, LY y SD, contribuyendo a las diferencias existentes en su comportamiento.
3. Las ratas LY presentan una mejor respuesta ante el tratamiento con agonistas totales y parciales en el LCE.

4. El triptofol no parece generar un efecto negativo sobre la conducta motora de los individuos en las dosis utilizadas después de 16h de su administración en la prueba de ROTAROD.

11.Referencias

American Psychological Association. (2017). Anxiety.

American Psychiatric Association, A. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. (Washington, D.C).

Arantes, R., Tejada, J., Bosco, G. G., Morato, S., y Roque, A. C.(2013). A novel anxiety index for the rat behavior in the elevated plus-maze. *BMC Neuroscience*, 14(Suppl 1): P326.

Albuquerque, P., Casadevall, A. (2012). Quorum sensing in fungi—a review. *Med. Mycol.* 50, 337–345.

Bel, N., y Artigas, F. (1993). Chronic treatment with fluvoxamine increases extracellular serotonin in frontal cortex but not in raphe nuclei. *Synapse* 15, 243–245.

Bohlen, M., Cameron, A., Metten, P., Crabbe, J.C., Wahlsten, D. (2009). Calibration or rotational acceleration for the rotarod test of rodent motor coordination. *Journal of Neuroscience methods*. 178 (1):10-14.

Braun, A. A., Skelton, M. R., Vorhees, C. V, Williams, M. T. (2011). Pharmacology, Biochemistry and Behavior Comparison of the elevated plus and elevated zero mazes in treated and untreated male Sprague – Dawley rats : Effects of anxiolytic and anxiogenic agents. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 97(3), 406–415.

Boess, FG., Martin IL. (1994). Molecular biology of 5-HT receptors. *Neuropharmacology*. 33:275-317.

Bondarenko, E., Guimarães, D. D., Braga, V. A., y Nalivaiko, E. (2016). Respiratory Physiology y Neurobiology Integrity of the dorsolateral periaqueductal grey is essential for the fight-or-flight response , but not the respiratory component of a defense reaction. *Respiratory Physiology y Neurobiology*, 226, 94–101.

Buffalari, M. Deanne., Baldwin, K. Chelsey., See, E. Ronald. (2012). Treatment of cocaine withdrawal anxiety with guanfacine: relationships to cocaine intake and reinstatement of cocaine seeking in rats. Department of Neuroscience, University of Pittsburgh, Pittsburgh. PA, 15260

Brown, T.A., Barlow, D.H., y Liebowitz, M.R. (1994) The empirical basis of generalized anxiety disorder. *Am. J. Psychiatry*, 151: 1272–1280.

De Vry, J. (1995). 5-HT_{1A} receptor agonists: recent developments and controversial issues., *Psychopharmacology (Berl)*. 121 :1–26.

Campos, Alisson C., Fogaca, Manorela, V., Aguiar, Daniele, C., Guimarães , Francisco, S., (2013). Animal models of anxiety disorders and stress. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 35:S101-S111.

Carlson, N.R.,(2006). *Physiology of behavior*.8a ed. Pearson. Madrid. España

Collinson, N., y Dawson, G. R. (1997). On the elevated plus-maze the anxiolytic-like effects of the 5-HT(1A) agonist, 8-OH-DPAT, but not the anxiogenic-like effects of the 5-HT(1A) partial agonist, buspirone, are blocked by the 5-HT(1A) antagonist, WAY 100635. *Psychopharmacology*, 132(1), 35–43.

- Chen, N.J. Penington. (1996). Differential effects of protein kinase C activation on 5-HT_{1A} receptor coupling to Ca²⁺ and K⁺ currents in rat serotonergic neurones., *J. Physiol*, 496 (Pt 1) 129–137
- Chidlow, G., Santis, L. M. De, Sharif, N. A., y Osborne, N. N. (1995). Characteristics of [³ H] 5-Hydroxytryptamine Binding to Iris-Ciliary Body Tissue of the Rabbit, 36(11), 2238–2245.
- Chua, H.C., Chebib ,M. (2017). GABA_A receptors and the diversity in their structure and pharmacology, *Adv. Pharmacol*, 79 1–34.
- Cornford, E. M., Bocash, W. D., Braun, L. D., Crane, P. D., Oldendorf, W. H., y MacInnis, A. J.(1979). Rapid distribution of tryptophol (3-indole ethanol) to the brain. and other tissues. *Journal of Clinical Investigation*, 63(6):1241–1248.
- Coppen, A.(1967) . The biochemistry of affective disorders., *Br. J. Psychiatry*. 113 1237–64.
- Cui, S., Zhang, J., Guan, D., Zhao, X., y Si, J. (2019). Antecedents of statistics anxiety: An integrated account. *Personality and Individual Differences*144(February):79–87.
- Depoortere, R., Bardin, L., Varney, M. A., y Newman-Tancredi, A. (2019). Serotonin 5-HT_{1A} Receptor Biased Agonists Display Differential Anxiolytic Activity in a Rat Social Interaction Model. *ACS Chemical Neuroscience*, 1–7.
- Dickerson, S.S., y Kemeny, M.E. (2004) Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integra- tion and synthesis of laboratory research. *Psychol, Bull*, 130: 355–391

- Dunn, A.J., y Berridge, C.W. (1990) Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress response. *Brain Res. Rev.*, 15: 71–100.
- Eden, A., Van Nederveelde, L., Drukker, M., Benvenisty, N., Debourg, A. (2001). Involvement of branched-chain amino acid aminotransferases in the production of fusel alcohols during fermentation in yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 55, 296–300.
- Eguibar, J. R., Romero-Carbente, J. C., y Moyaho, A., (2003). Behavioral differences between selectively bred rats: D1 versus D2 receptors in yawning and grooming. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 74(4):827–832.
- Estanislau, C. (2012). Cues to the usefulness of grooming behavior in the evaluation of anxiety in the elevated plus-maze. *Psychology and Neuroscience*, 5(1), 105–112. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2012.1.14>
- Faravelli, C. (1985). Life events preceding the onset of anxiety disorder. *J. Affective Disord*, 9: 103–105.
- Fedotova, J., Kubatka, P., Büsselberg, D., Shleikin, A. G., Caprnda, M., Dragasek, J., y Gasparova, I. (2017). Biomedicine & Pharmacotherapy Therapeutical strategies for anxiety and anxiety-like disorders using plant- derived natural compounds and plant extracts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95(May), 437–446.
- Finlay-Jones, R., Brown, GW. (1981). Types of stressful life event and the onset of anxiety and depressive disorders. *Psychol med*, 11(4): 803-15.
- Frank, E., Anderson, B., Reynolds, C.F., Ritenour, A., y Kupfer, D.J. (1994) Life events and the research diagnostic criteria endogenous subtype. A confirmation of the distinction using the Bedford College methods. *Arch. Gen. Psychiatry*, 51: 519–524.

- Garcia-Garcia, A.L., Canetta, S., Stujenske, J.M., Burghardt, N.S., Ansorge, M.S., Dranovsky, A., Leonardo, E.D. (2017). Serotonin inputs to the dorsal BNST modulate anxiety in a 5-HT_{1A} receptor-dependent manner, *Mol. Psychiatry*.
- Graeff, F.G., y Schoenfeld, R.I. (1970). Tryptaminergic mechanisms in punished and nonpunished behavior. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 173: 277–283.
- Gottschalk, M. G., y Domschke, K. (2017). *Translational research*, 159–169.
- Handley, S. L., y Mithani, S. (1984). *Archives of Pharmacology* Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour, 1–5.
- Harada, H., Kashiwadani, H., Kanmura, Y., Kuwaki, T., Perry, R., y Leon, M. (2018). Linalool Odor-Induced Anxiolytic Effects in Mice, 12(October), 1–8.
- Harro, J. (2018). Animals , anxiety , and anxiety disorders : How to measure anxiety in rodents. *Behavioural Brain Research*, 352, 81–93.
- Hellhammer, D.H. and Wade, S. (1993). Endocrine correlates of stress vulnerability. *Psychother. Psychosomat.*, 60: 8–17.
- Hjorth S., Bengtsson H.J., Kullberg A., Carlzon D., Peilot H., y Auerbach S.B. (2000). Serotonin autoreceptor function and antidepressant drug action, *J. Psychopharmacol.*, 14, 177-185
- Holmgren, B., Urbán-Holmgren, R., Trucios, N., Zermefio, M. and Eguibar, J.R., Association of spontaneous and dopamine-induced yawning and penile erections in the rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 22 (1985) 31-35.

- Huang, X., Yang, J., Yang, S., Cao, S., Qin, D., Zhou, Y., Wu, J., (2017). Role of tandospirone, a 5-HT_{1A} receptor partial agonist, in the treatment of central nervous system disorders and the underlying mechanisms. *Oncotarget*, **8(60)**: 102705–102720.
- Ivandić, I., Kamenov, K., Rojas, D., Cer, G., Nowak, D., y Sabariego, C. (2017). Determinants of Work Performance in Workers with Depression and Anxiety : A Cross-Sectional Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*, 466.
- Jackson M. The age of stress: science and the search for stability. Oxford: Oxford University Press, 2013
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H y Jessell ,T.M. (2000). Principles of neural science. 4a ed. McGraw-Hill. U.S.A.
- Kagamiishi, Y., Yamamoto, T., & Watanabe, S. (2003). Hippocampal serotonergic system is involved in anxiety-like behavior induced by corticotropin-releasing factor, *991*, 212–221.
- Karasewich, T. A., y Kuhlmeier, V. A. (2020). Trait social anxiety as a conditional adaptation : A developmental and evolutionary framework. *Developmental Review*, *55*-100886.
- Keyes, A., Deale, A., Foster, C., y Veale, D. (2020). Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry Time intensive cognitive behavioural therapy for a specific phobia of vomiting : A single case experimental design. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, *66*-01523.

- Kirschbaum, Clemens., Prike, Martin K., y Hellhammer, Dirk, H. (1993). The Trier social stress test, a tool for investigating psychobiological stress responses in a laboratory setting. *Neuroendocrinology*, 28:76-81
- Kroeze, Y., Zhou, H., y Homberg, J. R. (2012). Pharmacology & Therapeutics The genetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacology and Therapeutics*, 136(3), 375–400.
- Lawrence, P. J., Waite, P., y Creswell, C.,(2019). Development and Maintenance of Anxiety Disorders. *Pediatric Anxiety Disorders. Elsevier Inc.*14(6) 101-124
- Lemondé, G., Turecki, D., Bakish, L., Du, P.D., Hrdina, C.D., Bown, A., Sequeira, N., Kushwaha, S.J., Morris, A., Basak, X.-M., Ou, P.R. Albert. (2003). Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide, *J. Neurosci.* 23,8788–8799.
- Lenze, E.J., Goate, A.M., Nowotny, P., Dixon, D., Shi, P., Bies, R.R., Lotrich, F.K. Rollman, B.L., Shear, M.K., P.A., Thompson, C., Andreescu, B.G., Pollock. Relation of serotonin transporter genetic variation to efficacy of escitalopram for generalized anxiety disorder in older adults, *J. Clin. Psychopharmacol.* 30 (2010) 672–677.
- Lezak, K. R., Missig, G., y Jr, W. A. C. (2017). Behavioral methods to study anxiety in rodents *Translational Research*.
- Licinio, F. O’Kirwan, K. Irizarry, B. Merriman, S. Thakur, R. Jepson, S. Lake, K.G. Tantisira, S.T. Weiss, M.L. Wong, Association of a corticotropin-releasing hormone receptor 1 haplotype and antidepressant treatment response in Mexican-Americans, *Mol. Psychiatry* 9 (2004)
- Lisieski, M. J., Eagle, A. L., Conti, A. C., Liberzon, I., y Perrine, S. A., (2018). Single-prolonged stress: A review of two decades of progress in a rodent

model of post-traumatic stress disorder. *Frontiers in Psychiatry*, 9(MAY):1–22.

Lorenz, K., Universitaria, F., y Vargas-irwin, C. (2011). Modelos animales. Una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad Animal models. A review from three tests used in anxiety, 18, 141–148.

Manji, H.K., Drevets, W.C. and Charney, D.S. (2001) The cellular neurobiology of depression. *Nat. Med.*, 7: 541–547

Mc Ewen, B.S. (1995) Adrenal steroid action on brain: dissecting the fine line between protection and damage. In: Friedman, M.J. Charney, D.S. and Deutch, A.Y. (Eds.), *Neurobiological and Clinical*

Mcgowan, O. O. (2019). Neuroscience Letters Pharmacogenetics of anxiety disorders. *Neuroscience Letters*, (July)., 134443.

McKenzie-Quirk, D. Sara., y Miczek, A. Klaus. (2003). 5-HT_{1A} agonists: alcohol drinking in rats and squirrel monkeys. *Springer-Verlag.*, 167:145–152

Montgomery K.C., The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior, *J. Comp. Physiol. Psychol.* 48 (1955) 254–260

Moyaho, A., y Valencia, J., (2002). Grooming and yawning trace adjustment to unfamiliar environments in laboratory Sprague-Dawley rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*, 116(3): 263–269.

Moyaho, A., Barajas, M., Ugarte, A., & Eguibar, J. R., (2009). Genetic and littermate influences on yawning in two selectively bred strains of rats. *Developmental Psychobiology*, 51(3):243–248.

Moyaho, A., Eguibar, J. R., & Diaz, J. L., (1995). Induced grooming transitions and open field behaviour differ in high- and low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats. *Animal Behaviour*, 50(1):61–72.

- Nederveelde, V., & Benvenisty, D. N., (2001). Involvement of branched-chain amino acid aminotransferases in the production of fusel alcohols during fermentation in yeast. *Microbiol Biotechnol.*,55: 296–300.
- Nishitsuji, K., To, H., Murakami, Y., Kodama, K., Kobayashi, D., Yamada, T., ... Mine, K. (2004). Tandospirone in the Treatment of Generalised Anxiety Disorder and Mixed Anxiety-Depression Results of a Comparatively High Dosage Trial, *24(2)*, 121–126.
- Oficina de Información Científica y Tecnológica para el congreso de la union.,(2018).https://www.foroconsultivo.org.mx/INCYTU/documentos/Completa/INCYTU_18-007.pdf
- Plaisier, I., Beekman, A. T. F., Graaf, R. De, Smit, J. H., Dyck, R. Van, & Penninx, B. W. J. H. (2010). Work functioning in persons with depressive and anxiety disorders : The role of specific psychopathological characteristics. *Journal of Affective Disorders*, *125(1–3)*, 198–206.
- Preskorn SH, Ross R, Stanga CY (2004) Selective serotonin reuptake inhibitors. In: Preskorn SH et al (eds) *Antidepressants: past, present and future*. Springer-Verlag, New York, pp 241–262
- Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Holmgren, B., Eguibar, J. R., Gavito, A., Cruz, G., & Santos, A., (1990). Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research*, *40(1)*:29–35.
- Uribe, C.A., Eguibar, J.R., (2010). Determinación de las respuestas conductuales ante situaciones de estrés en ratas de alto y bajo bostezo de la línea Sprague-Dawley. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Fisiológicas en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,45-55

- Richard, J., Sechelski, J., (1977). Tryptophol levels in mice injected with pharmacological doses of tryptophol, and the effect of pyrazole and ethanol on these levels. *Life Sciences*, 21(1): 16203-161
- Raskin, M., Peeke, H.V., Dickman, W. and Pinsker, H. (1982) Anxiety and generalized anxiety disorders. Developmental antecedents and precipitants. *Arch. Gen. Psychiatry*, 39: 687–689.
- Real, A. Leslie., (1994). *Behavioral Mechanisms in Evolutionary Ecology*. 1er ed., University of Chicago Press. USA.
- Robert J. Blanchard., D. Caroline Blanchard., Guy Griebel ., David Nutt., (eds.), (2008)., *Handbook of anxiety and fear* 1er ed., Elsevier., países bajos. 978-0-444-53065-3
- Rubin, R.T., Mandell, A.J. and Crandall, P.H. (1966) Corticosteroid responses to limbic stimulation in man: localization of stimulus sites. *Science*, 153: 767–768.
- Silverman, W. K., y Schalkwyk, G. I. Van. (2019). *What Is Anxiety ? Pediatric Anxiety Disorders*. Elsevier Inc.
- Silveira, R., & Reyes-parada, M. (1995). Sleep and Waking in 5 , 7-DHT-Lesioned Rats After Administration of Buspirone , Ipsapirone , or Gepirone, 52(2), 305–312.
- Popova N.K., Naumenko V.S., 5-HT1A receptor as a key player in the brain 5-HT system, *Rev. Neurosci.*, 2013, 24, 191-204
- Seed J.r., Seed T.M., y Schelski J., (1977). Biological effects of tryptophol (indole-3-ethanol): Hemolytic, biochemical and behavior modifying activity. *Comp Biochem Physiology* 60: 175-185

- Selye H., (1936). A Syndrome Produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature*, 138, 32.
- Siepmann, M., y Joraschky, P. (2007). Modelling Anxiety in Humans for Drug Development, 65–72.
- Strobel, A., Gutknecht, L., C. Rothe, A. Reif, R. Mössner, Y. Zeng, B. Brocke., Lesch, K.P. (2003). Allelic variation in 5-HT1A receptor expression is associated with anxiety- and depression-related personality traits, *J. Neural Transm.* 110:1445–1453.
- Sved, A.F., Cano, G., Passerin, A.M. and Rabin, B.S. (2002) The locus coeruleus, Barrington's nucleus, and neural circuits of stress. *Physiol. Behav.*, 77: 737–742.
- Tanis, K. Q., Newton, S. S., & Duman, R. S. (2007). Targeting Neurotrophic / Growth Factor Expression and Signaling for Antidepressant Drug Development, 151–160.
- Valentino, R.J. and Commons, K.G. (2005) Peptides that fine-tune the serotonin system. *Neuropeptides*, 39: 1–8.
- Van de Kar, L.D. and Blair, M.L. (1999) Forebrain pathways mediating stress-induced hormone secretion. *Front. Neuroendocrinol.*, 20: 1–48.
- Walf, Alicia A., y Cherly, Frye, A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat protoc.* 2(2): 322–32.
- Walker, D.L., Toufexis, D.J., Davis, M., 2003. Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. *Eur. J. Pharmacol.* 463, 199e216
- Wise, T., Patrick, F., Meyer, N., Mazibuko, N., Oates, A. E., Bijl, A. H. M. Van Der., Young, A. H. (2020). Archival Report Cholinergic Modulation of

Disorder-Relevant Neural Circuits in Generalized Anxiety Disorder. *Biological Psychiatry*, 87(10), 908–915.

World Health Organization, *Depression and Other Common Mental Disorders.*, (2017). *Global Health Estimates*, World Health Organization, Geneva.

You JS, Hu SY, Chen B, Zhang HG. Serotonin transporter and tryptophan hydroxylase gene polymorphisms in Chinese patients with generalized anxiety disorder. *Psychiatr Genet*. 2005;15(1):7-11.

Young, E.A., Abelson, J.L. and Cameron, O.G. (2005). Interaction of brain noradrenergic system and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in man. *Psychoneuroendocrinology*, 30: 807–814.

Yuan S, Peng Q, Palczewski K, Vogel H, Filipek S. (2016) Mechanistic studies on the stereoselectivity of the serotonin 5-HT_{1A} receptor. *Angew Chem Int Ed*; 55:8661-8665

Żmudzka , Elżbieta., Sałaciak, Kinga., Sapa, Jacek., Pytka ., Karolina., (2018). Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies .*LifeScience*; S0024-3205(18)30504-6

12. Anexos

12.1 Lista de Abreviaturas

ACTH	Hormona adrenocorticotrofina
AM	Amígdala
AML	Amígdala lateral

AMC	Amígdala central.
BDZ	Benzodiazepinas
CP	Corteza prefrontal
COT	Cortisol
CORT.	Hormona liberadora de corticotrofina
EEM	Error estándar de la media
HC	Hipocampo
HPA	Eje hipotalámico-pituitaria-adrenal.
HY	High yawning
LY	Low yawning
LCE	Laberinto en cruz elevado
PVN	Núcleo paraventricular
TAD	Trastorno de ansiedad generalizada.
TEPT	Transtorno de estrés post traumático
TrpOH	Triptofol
TOC	Trastorno obsesivo compulsivo
TDA	Trastornos de ansiedad
SD	Sprague Dawley
5-HT	5-hidroxitriptamina (Serotonina).
8-OH-DPAT	8-Hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralina