

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS, DIVISIÓN DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD.

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE SERVICIO SOCIAL:

“ESTABLECIMIENTO DE UN AMBIENTE ENRIQUECIDO PARA MEJORAR LA
RESPUESTA ANTE ESTRÉS EN RATAS MACHO”

ALUMNA: JESSICA IVONNE CASTILLO YÁÑEZ - 2162030240

FECHA DE INICIO: 05/09/22

FECHA DE TÉRMINO: 06/03/23



Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha

No. Económico: 35135

Departamento de Sistemas

Biológicos.

Área Farmacocinética y

Farmacodinamia

Asesor interno



Dr. José Jaime Herrera Pérez

Cédula profesional: 8028486

Dirección de Investigaciones en

Neurociencias.

Instituto Nacional de Psiquiatría

Ramon de la Fuente Muñiz

Asesor externo

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	7
3. OBJETIVO GENERAL:.....	7
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	8
5. MARCO TEÓRICO.....	9
5.1. Plasticidad cerebral.....	9
5.1.1. Mecanismos de neuroplasticidad.....	11
5.1.2. Aspectos bioquímicos y neurofisiológicos.....	12
5.1.3. Plasticidad y resiliencia.....	15
5.2. Estrés.....	18
5.2.1. Causas de estrés.....	20
5.2.2. Estresores	22
5.2.3. Regulación del estrés	22
5.2.4. Eje HHA del estrés	23
5.2.5. Alteraciones fisiológicas asociadas al estrés	25
5.2.6. Trastornos neurológicos asociados al estrés.....	27
5.2.6.1. Ansiedad.....	27
5.2.6.1.1. Clasificación de los trastornos de ansiedad.	30
5.2.6.2. Depresión	30
5.2.6.2.1. Episodio depresivo mayor	31
5.3. Enriquecimiento ambiental.....	32
5.3.1. EA como fuente de plasticidad para mejorar funciones cerebrales.	34
5.4. Modelos animales de ansiedad y depresión.	36
5.4.1. Modelos animales de depresión	37
5.4.2. Modelos animales de ansiedad.....	38
5.4.3. Laberinto elevado en cruz (ansiedad):.....	38
5.4.4. Prueba de enterramiento defensivo (ansiedad):	39

5.4.5. Prueba de nado forzado (depresión):	40
6. MATERIAL Y MÉTODOS	42
6.1. Enriquecimiento ambiental	42
6.2. Pruebas conductuales.....	43
6.2.1. Prueba de laberinto elevado en cruz (ansiedad)	43
6.2.2. Prueba de enterramiento defensivo (ansiedad).	45
6.2.3. Prueba de nado forzado (depresión)	47
7. DISEÑO EXPERIMENTAL	50
7.1. Análisis estadístico.....	51
8. RESULTADOS	52
8.1. Enriquecimiento ambiental.....	52
8.1. Prueba de laberinto elevado en cruz (ansiedad).....	52
8.2. Prueba de enterramiento defensivo (ansiedad)	53
8.3. Prueba de nado forzado (depresión).....	54
9. DISCUSIÓN.....	57
10. CONCLUSIONES.....	64
12. REFERENCIAS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo para la generación de la LTP	14
Figura 2. Activación de receptores NMDA	14
Figura 3. Sistemas neuronales involucrados en la resiliencia y la vulnerabilidad..	17
Figura 4. Respuesta del organismo humano frente al estrés.....	20
Figura 5. Adaptación del individuo al estrés.....	21
Figura 6. Componentes y ruta de activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA).....	24
Figura 7. Función del sistema de estrés.....	25
Figura 8. Modelo de "diátesis - estrés" de los trastornos afectivos.....	27
Figura 9. Individuo, estrés y ansiedad.....	29
Figura 10. Diseño del enriquecimiento ambiental.....	43
Figura 11. Laberinto elevado en cruz.....	44
Figura 12. Prueba de enterramiento defensivo.....	46
Figura 13. Prueba de nado forzado.....	47
Figura 14. Prueba de nado forzado y conductas evaluadas.....	49
Figura 15. Diseño experimental para evaluar el efecto del enriquecimiento ambiental sobre la respuesta de estrés en ratas macho jóvenes (a). Línea de tiempo de las manipulaciones experimentales (b).....	51
Figura 16. Resultados sobre el efecto del enriquecimiento ambiental sobre el desempeño de los roedores en la prueba de laberinto elevado en cruz.....	53

Figura 17. Resultados sobre el efecto del enriquecimiento ambiental sobre el desempeño de los animales en la prueba de enterramiento defensivo.....55

Figura 18. Resultados sobre el efecto del enriquecimiento ambiental sobre la conducta de los roedores en la prueba de nado forzado.....56

1. INTRODUCCIÓN

El aumento en la esperanza de vida de los humanos ha dado paso a un incremento en la incidencia de padecimientos psiquiátricos asociados al estrés como la ansiedad y la depresión, donde un factor de vulnerabilidad para desarrollar estas patologías es el envejecimiento. Con ello se ha motivado el desarrollo de investigaciones en el campo básico y clínico para conocer mejor la fisiopatología de estas enfermedades, con la intención de desarrollar alternativas de prevención o tratamiento. Al respecto, se menciona el aporte de varios autores que destacan al enriquecimiento ambiental como una alternativa de gran relevancia para mejorar su resiliencia ante estas patologías.

Se ha sugerido que la plasticidad cerebral, permite afrontar las situaciones estresantes a las que el individuo se enfrenta en su vida diaria, reduciendo la posibilidad de desarrollar los padecimientos psiquiátricos. La fisiopatología de estas enfermedades puede estudiarse mediante modelos animales, éstos son preparaciones experimentales que simulan uno o varios síntomas de una patología humana; por otro lado, se ha descrito que la plasticidad cerebral en animales puede estimularse al exponerlos a un ambiente enriquecido, esto es, un alojamiento con modificaciones estructurales que permitan que los sujetos experimentales se ejerciten, jueguen y controlen su entorno. Esta manipulación experimental, junto con los modelos animales de depresión y ansiedad, representa una opción importante para establecer si un ambiente enriquecido mejora la respuesta de estrés de los roedores jóvenes macho y pueda emplearse en roedores envejecidos.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la incidencia de patologías asociadas al estrés como la depresión va en aumento a nivel mundial, reportes previos de laboratorio indican que, al igual que, en la clínica, el envejecimiento en roedores incrementa su vulnerabilidad al estrés promoviendo el desarrollo de conductas tipo depresivas y ansiosas, este efecto se asocia con bajos niveles de hormonas gonadales (Herrera-Pérez, et al., 2008) que, a su vez, se asocia con una reducción en la plasticidad cerebral. De esta manera, se propone que la mayor vulnerabilidad de los sujetos envejecidos a las enfermedades asociadas al estrés está relacionada con deficiencias en la plasticidad cerebral.

Se ha reportado que la restitución con andrógenos (testosterona y dehidroepiandrosterona –DHEA-) mejora la resiliencia (capacidad para lidiar con el estrés) y proliferación/maduración neuronal de sujetos envejecidos (Herrera-Pérez, et al., 2008), sin embargo, el uso de estas hormonas también genera efectos adversos relevantes, por lo que es preciso encontrar alternativas de tratamiento que minimicen estos efectos secundarios. En este sentido, el enriquecimiento ambiental es una opción importante ya que promueve plasticidad cerebral en sujetos jóvenes (Petrosini, et al., 2010), aunque su efecto sobre la respuesta de animales envejecidos ante el estrés ha sido escasamente estudiado. Con ello, el objetivo de este experimento es encontrar un ambiente enriquecido capaz de generar resiliencia en ratas macho jóvenes.

3. OBJETIVO GENERAL:

- Establecer un ambiente enriquecido capaz de mejorar la respuesta ante el estrés de ratas macho jóvenes.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Diseñar un ambiente que promueva el ejercicio, la interacción social y la interacción con objetos inanimados para mejorar respuesta ante estrés de ratas macho jóvenes.
- Evaluar el efecto del enriquecimiento ambiental sobre la respuesta de estrés de ratas macho jóvenes, usando pruebas conductuales que emplean estresores para inducir conductas tipo ansiosas y depresivas.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Plasticidad cerebral

El cerebro es uno de los órganos más complejos e importantes del sistema nervioso, está implicado en todas las funciones y tareas que realizamos a diario y que nos mantiene vivos. No solo nos sirve para pensar, hablar o razonar, también, gracias a la interacción de millones de neuronas, rige procesos como el hambre, el sueño y la respiración, así como el aprendizaje y la memoria (Doddoli, 2022). Para que el cerebro envíe mensajes a todo el organismo es necesario que las neuronas se comuniquen a través de los pequeños espacios que existen entre ellas, este proceso es conocido como sinapsis. Al recibir un estímulo, la información viaja de neurona en neurona hasta llegar a un centro de procesamiento. Ahí el cerebro decide cuál es la acción más adecuada y envía la información con instrucciones de regreso. Es importante destacar que la buena comunicación entre neuronas es esencial para que el cerebro realice todas sus acciones, desde ordenar a los músculos que se contraigan o se relajen para realizar un movimiento, hasta la tarea intelectual más complicada, pasando por las funciones que originan, controlan y modulan las emociones. Sin embargo, estas redes neuronales no son permanentes ya que el cerebro tiene la capacidad para reorganizarlas a lo largo de la vida, generando nuevas redes neuronales en función de las nuevas experiencias o aprendizajes adquiridos (Doddoli, 2022). Este proceso se conoce como plasticidad cerebral o neuroplasticidad, y puede definirse como aquella capacidad del cerebro para recuperarse, reestructurarse y adaptarse a nuevas situaciones.

Un ejemplo de este fenómeno se presenta cuando aprendemos algo nuevo, en este caso las neuronas forman redes para comunicarse entre sí y, al poner en práctica esta nueva enseñanza, éstas se fortalecen facilitando su interconexión y comunicación, lo que permite desarrollar de manera más fácil la nueva tarea o habilidad adquirida (CogniFit, 2015).

La plasticidad cerebral también se asocia con la capacidad del cerebro para minimizar los efectos de lesiones, esto lo hace a través de cambios estructurales y funcionales, determinados por la capacidad de cambio que tiene el sistema nervioso ante influencias endógenas y exógenas, lo que permite la adaptación del individuo a los cambios ambientales (Pascual-Castroviejo, 1996).

El término plasticidad, fue abordado por William James en la psicología moderna, lo relacionaba con el desarrollo de los hábitos de comportamiento y la habilitación de rutas cerebrales específicas, teniendo un impacto importante tanto en el aprendizaje como en el uso repetido del mismo (Rojas, 2020).

En sus estudios acerca del sistema nervioso central, Ramón y Cajal habló sobre la plasticidad neural o neuronal, la cual implica cambios corticales que se asocian al aprendizaje y sugirió que los nuevos procesos o aprendizajes promueven el crecimiento y alargamiento de axones y dendritas cerebrales (Rojas, 2020).

En años recientes, Jacques Paillard, uno de los científicos más influyentes en este tema, se refiere a la plasticidad como cambios de la estructura cerebral en respuesta a una fuerza externa y que se mantienen cuando esta fuerza es eliminada. Sugiriendo así, que el cerebro no es elástico (con la capacidad de expandirse), es plástico (Rojas, 2020).

De manera general existen dos principales tipos de plasticidad cerebral, una de carácter funcional, que se refiere a la remodelación que ocurre en el cerebro después de perder un miembro, por ejemplo, cuando se sufre la amputación de un dedo, las neuronas en el cerebro que representan a ese dedo pierden la comunicación sensorial con esa parte del cuerpo e inducen a una reorganización en la que esas neuronas ahora trabajen para responder a las partes cercanas del dedo perdido. Al segundo tipo de plasticidad se le conoce como estructural, se refiere a aquellos mecanismos que existen en el cerebro que le permiten ser

flexible, reforzar las redes que ya existen y formar nuevas redes neuronales (Doddoli, 2022).

5.1.1. Mecanismos de neuroplasticidad

Los mecanismos de neuroplasticidad se definen en función del proceso que los origina, el lugar donde se desarrolla, el mecanismo por el cual se produce, entre otras. Algunos ejemplos de estos mecanismos son (Sierra-Benítez & León-Pérez, 2019):

1. Ramificación o sinaptogénesis reactiva: mecanismo que describe el crecimiento de un cuerpo celular hacia otro como consecuencia de su crecimiento normal. Es decir, el vacío en un sitio particular puede llenarse parcialmente con la ramificación de células neurales guiada por axones de crecimiento y proteínas como la laminina, integrina y cadherinas, con múltiples sitios de acoplamiento para neuronas, factores tróficos y glucoproteínas.

2. Compensación conductual: este mecanismo se lleva a cabo después de un daño cerebral, pueden desarrollarse nuevas combinaciones de conductas; por ejemplo; un paciente puede usar diferentes grupos de músculos u otras estrategias cognoscitivas para compensar el daño en alguna estructura cerebral.

3. Desenmascaramiento: en este mecanismo las conexiones neuronales en reposo que están inhibidas en el estado normal pueden desenmascarse después de un daño cerebral.

4. Factores tróficos: se relacionan con la recuperación cerebral después de una lesión, ejemplos de estos son: factor de desarrollo nervioso (NGF), las integrinas, neurotrofinas, factor neurotrófico derivado del cerebro, factor fibroblástico de desarrollo y factor neurotrófico derivado de la glía.

5. Sinapsinas y neurotransmisores: las sinapsinas son fosfoproteínas que aglutinan vesículas y las unen al citoesqueleto de las membranas. Los

neurotransmisores además de mediar información transináptica pueden inducir efectos de sinaptogénesis y reestructuración neuronal. En otras formas de plasticidad sináptica, el calcio y otros mensajeros desencadenan eventos intracelulares, como la fosforilación proteica y los cambios en la expresión genética, que al final pueden conducir a cambios más permanentes en la potencia sináptica.

6. Regeneración de fibras y células nerviosas: ocurre fundamentalmente en el sistema nervioso periférico, donde las células de Schwann proveen un ambiente favorable para los procesos de regeneración y facilitan la liberación de factores de desarrollo nervioso, factor neurotrófico derivado del encéfalo, etc.

5.1.2. Aspectos bioquímicos y neurofisiológicos

Actualmente son dos las rutas biomoleculares de plasticidad neuronal para lograr la potenciación y depresión a largo plazo, procesos indispensables para consolidar la memoria y el olvido, respectivamente: la excitabilidad intrínseca (que depende de cambios en las propiedades de los canales iónicos) y la plasticidad sináptica (aquellos cambios en la fuerza o intensidad en la sinapsis entre dos neuronas) (Garcés-Vieira & Suárez-Escudero, 2014).

Desde una visión molecular, uno de los puntos cruciales que se requieren para llevar a cabo un fenómeno neuroplástico a través de la potenciación (LTP) o depresión a largo plazo es la concentración y manejo celular del calcio (Ca^{2+}). La potenciación a largo plazo depende de receptores tipo NMDA (N-metil-D-aspartato, asociados a los procesos de aprendizaje y memoria, el desarrollo y la plasticidad neural), AMPA (permiten la transmisión sináptica) y kainato (modulan la liberación de glutamato, contribuyendo al equilibrio de la excitabilidad neuronal en el hipocampo). El proceso de depresión a largo plazo requiere canales L de Ca^{2+} , de receptores tipo NMDA y metabotrópicos de glutamato (RmGlu) (Garcés-Vieira & Suárez-Escudero, 2014).

La liberación pre-sináptica de glutamato y la despolarización neuronal post-sináptica elevan el nivel de Ca^{2+} . En este primer paso se requiere, según el tipo de neurona, la activación de receptores NMDA, RmGlu y canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (CCDV). Posteriormente, el Ca^{2+} activa la proteína cinasa 2 dependiente de calmodulina- Ca^{2+} (PKDCAL2), la cual fosforila la subunidad GluR1 AMPAR. Este proceso aumenta el número de AMPAR funcionales para aumentar, mantener o amplificar la plasticidad sináptica. Además del glutamato, otros neurotransmisores participan en la plasticidad neuronal. Cuando se libera dopamina, noradrenalina o adenosina, éstos actúan sobre receptores (dopamina D1, β -adrenérgicos y de adenosina tipo 2A, respectivamente) de membrana acoplados a proteínas G, la subunidad alfa de esta proteína activa el adenilato ciclasa para producir AMPc, este segundo mensajero activa a su vez a la proteína kinasa A que fosforila la subunidad GluR1 AMPAR y así inducir potenciación a largo plazo (ver figura 1 y 2) (Garcés-Vieira & Suárez-Escudero, 2014).

Finalmente, para que en la red neuronal se produzca plasticidad sináptica estable y persistente se requiere de la activación de receptores tirosina cinasas que modulen la transcripción genética y la transducción proteica. Lo anterior hace evidente que la plasticidad sináptica es un proceso dinámico que sirve como el engranaje biomolecular que enlaza el ambiente externo lleno de sensaciones, con el ambiente interno de realidad cerebral (Garcés-Vieira & Suárez-Escudero, 2014).

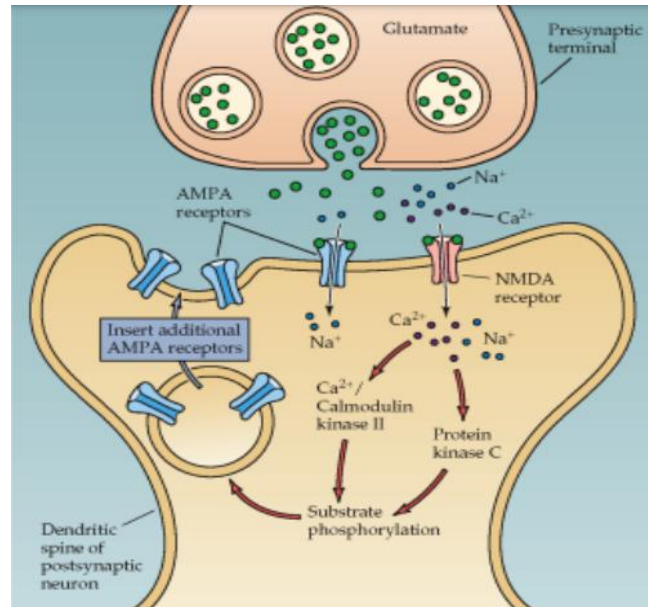


Figura 1. Mecanismo para la generación de la LTP. Durante la liberación del Glutamato (Glu), los canales NMDA sólo se abren si la membrana postsináptica está lo suficientemente despolarizada. Los iones de Ca^{2+} que entre en la célula a través de los canales, activan proteincinasas. Estas cinasas actúan insertando nuevos receptores en la espina dendrítica, aumentando la sensibilización al Glu. (Recuperado de Ortega-Loubon & Franco, 2010).

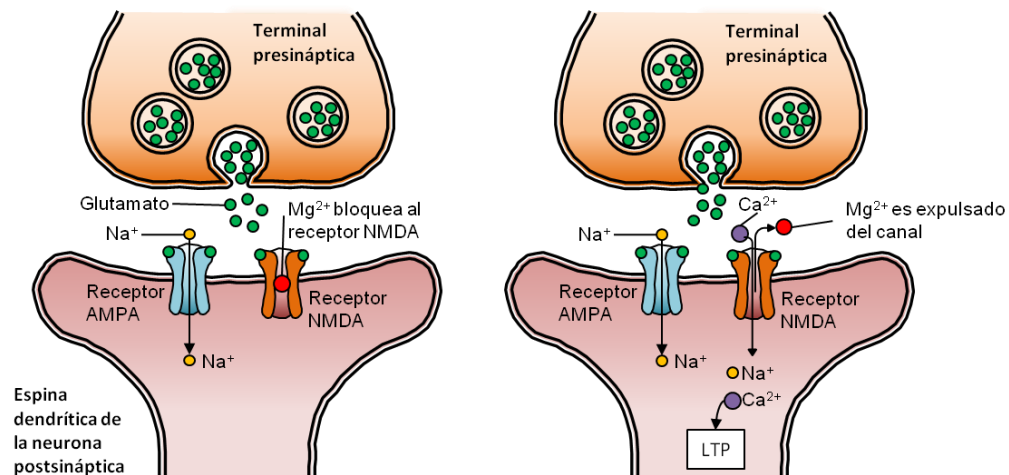


Figura 2. Activación de receptores NMDA. Izquierda. Durante la transmisión sináptica normal se libera Glutamato (Glu) de la terminal presináptica, éste actúa sobre receptores AMPA para permitir la entrada de Na^+ . El receptor NMDA está bloqueado por el Mg^{2+} . Derecha. Cuando la membrana postsináptica se despolariza por la acción de los receptores AMPA, se alivia el bloqueo del canal NMDA por el Mg^{2+} . Esto permite la entrada de Ca^{2+} a través del canal NMDA (Modificado de Ortega-Loubon & Franco, 2010).

5.1.3. Plasticidad y resiliencia

Las experiencias adversas generalmente facilitan el desarrollo de trastornos mentales como la depresión, la ansiedad o la esquizofrenia. Sin embargo, algunos individuos son capaces de superar la adversidad logrando un desarrollo físico y psicológico adecuado; este proceso se conoce como resiliencia (Montes-Rodríguez & Urteaga-Urías, 2018).

La resiliencia requiere de sistemas neuronales que representen y evalúen el contexto de una situación adversa para dar una salida conductual adecuada, y que reorganicen la memoria de dicha situación para poder contar otro relato a partir de los mismos elementos de la experiencia, es decir, un sistema que permita reorganizar los ensamblajes neuronales de dicha memoria. En este sentido, no es casualidad que los sustratos neuronales involucrados en la resiliencia incluyan al sistema de la motivación-acción-recompensa (núcleo accumbens-área tegmental ventral), de las emociones (amígdala-hipocampo), del estrés (eje hipotálamo-hipófisis-adrenal) y de la representación, evaluación y discriminación del contexto (corteza prefrontal-hipocampo). Así, un individuo se considera que es resiliente cuando ha experimentado situaciones de adversidad y continúa en el tiempo demostrando respuestas fisiológicas y psicológicas adaptativas frente al estrés (Montes-Rodríguez & Urteaga-Urías, 2018).

El sistema neuronal involucrado en la resiliencia requiere ser altamente plástico y multifuncional capaz de integrar momento a momento la información interoceptiva, exteroceptiva, emocional, motivacional y cognitiva. Esta integración es necesaria para que el sujeto evalúe el contexto (los estímulos externos, su ubicación espacial y temporal, la localización del propio sujeto, los estímulos internos, las posibles amenazas, etc.) y seleccione la estrategia que en ese momento considere la más adecuada. Las interacciones de la corteza prefrontal (CPF), el hipocampo, el área tegmental ventral (ATV), el núcleo accumbens (NAc) y la

amígdala se han asociado con dicha representación, evaluación y modificación del contexto (Montes-Rodríguez & Urteaga Urías, 2018).

Como ya se mencionó, entre los sustratos neuronales de la resiliencia se encuentran los circuitos clásicos del miedo (amígdala), de la recompensa (ATV-NAc) y del estrés (eje hipotálamo-hipófisis-adrenal), además de la CPF y el hipocampo. Estos últimos son las estructuras más sensibles al estrés agudo y crónico, por lo que tiene sentido que sean cruciales en los procesos de resiliencia (ver figura 3). Estos sustratos de la resiliencia coinciden con los sistemas y mecanismos que permiten la representación y la evaluación del contexto para una salida conductual adaptativa, la selección e incorporación de nuevas memorias y la reorganización de los ensamblajes neuronales, lo que sugiere que la plasticidad sináptica puede ser el mecanismo fundamental para responder adaptativamente a cambios adversos en el ambiente (Montes-Rodríguez & Urteaga-Urías, 2018).

En este sentido, es probable que los sujetos resilientes puedan reorganizar las memorias traumáticas gracias a la plasticidad sináptica de la CPF (corteza prefrontal), el hipocampo, la amígdala, el ATV y el NAc. Esta acción les permitiría adaptarse a las condiciones adversas, mientras que los sujetos vulnerables probablemente presentan una plasticidad sináptica disminuida en las mismas estructuras y no puedan llevar a cabo dicha reorganización de memorias (Montes-Rodríguez & Urteaga-Urías, 2018).

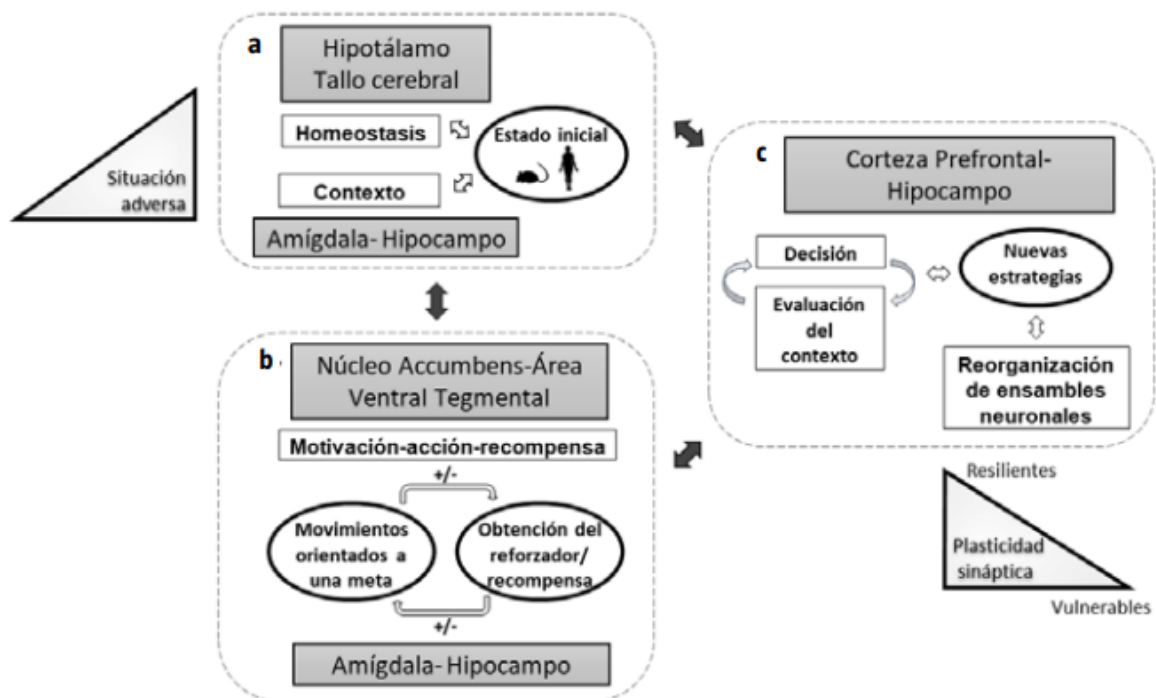


Figura 3. Sistemas neuronales involucrados en la resiliencia y la vulnerabilidad. Los procesos de resiliencia están enmarcados por el tipo y la intensidad de la experiencia adversa (contexto). Al menos tres grandes sistemas interactúan para que un sujeto desarrolle conductas resilientes o vulnerables: a) el hipotálamo y el tallo cerebral regulan los procesos homeostáticos y sensan el ambiente, mientras que las interacciones amígdala-hipocampo están representando y actualizando el contexto, es decir, el tipo y la intensidad de la experiencia adversa. El estado inicial del sujeto (homeostasis y contexto) es desequilibrado por la experiencia adversa, ante lo que el individuo tiene que desplegar conductas para resolver la situación; b) el núcleo accumbens-área tegmental ventral y la interacción amígdala-hipocampo permiten desplegar y seleccionar las conductas orientadas a una meta, las conductas que sean útiles al sujeto son reforzadas y se continúan, mientras que las conductas inadecuadas se extinguen; y c) las conductas que funcionan al individuo son las que se incorporarán a largo plazo y de esta manera se desarrollan nuevas estrategias a partir de la experiencia; neuronalmente se refleja en la reorganización de los ensamblajes neuronales asociados a la experiencia (Recuperado de Montes- Rodríguez & Urteaga-Urías, 2018).

5.2. Estrés

El término estrés proviene de la física, corresponde a la capacidad que tiene un cuerpo de volver a su condición inicial una vez que ha sido deformado. Cualquier organismo biológico está expuesto permanentemente a diversos estímulos, tanto del medio interno como del externo, que lo obligan a desplegar sus mecanismos de adaptación para recuperar el equilibrio u homeostasis. En el ser humano los estímulos estresantes pueden tener un origen biológico o psicosocial, y la respuesta de adaptación puede ser adecuada (respuesta de eustrés) y traducirse en salud, o bien ser inadecuada (respuesta de distrés) y llevar a distintos síntomas y signos que pueden llegar a constituir distintos cuadros mórbidos (Carvajal, 2005).

Por ello, el estrés, se define como aquella respuesta fisiológica de un individuo ante una situación que percibe como una amenaza o peligro (estresor), esta respuesta se caracteriza por un aumento de la actividad de los ejes hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y del sistema nervioso simpático (Gómez-Restrepo, et. al, 2008).

En esta definición destacan tres elementos fundamentales (Pérez-De la Plata & Fernández-Espinosa, 2013):

- Las demandas de las situaciones ambientales, que serían los agentes estresantes.
- La persona sobre la que influyen dichas situaciones y que las considera perjudiciales o desafiantes, y, por tanto, que le superan.
- Las respuestas del individuo al estrés, tanto emocionales como biológicas

Por otro lado, diversos estudios destacan la importancia del cerebro en la modulación del estrés, mismo que es capaz de categorizar los estresores y utilizar respuestas neurobiológicas distintas de acuerdo con la naturaleza de cada estresor. El cerebro detecta al menos dos categorías principales de estresores: los

físicos y los psicológicos, a los cuales responde de forma diferente (Vélez, et al., 2010).

En general el estrés puede manifestarse de diversas formas en un individuo y esto depende de ciertas características como género, edad, raza, personalidad, soporte social, entre otras; estas diferencias generan la activación de diferentes mecanismos defensivos capaces de producir respuestas psicofisiológicas con alto o bajo nivel de alerta (ver figura 4). Las repuestas con alto nivel de alerta se asocian con cambios de humor, cefalea, nerviosismo, tensión muscular con diversas respuestas como bruxismo o dolor lumbar y sensación de peligro, por otro lado, las respuestas con bajo nivel de alerta producen aumento de la presión arterial, aumento de lípidos, baja de glucemia, entre otras (Gómez-Restrepo, et al., 2008).

A la sensación de peligro se suman los efectos de la sobreestimulación del sistema reticular, hipervigilancia y tensión muscular, que pueden aumentar el malestar que origina el estresor. La hipervigilancia y la tensión muscular impiden la relajación y la conciliación del sueño, por lo cual, se aumentan las dificultades neuropsicológicas y cognoscitivas haciendo más difícil la tarea de superar el estímulo causante de estrés (Vélez, et al., 2010).

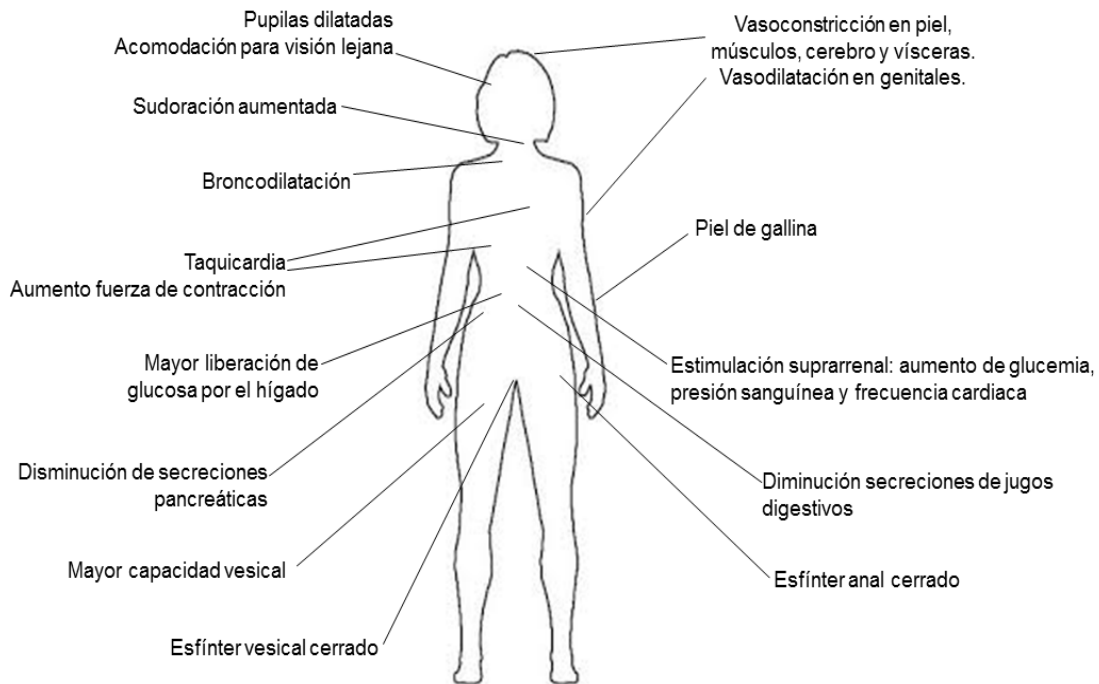


Figura 4. Respuesta del organismo humano frente al estrés (Modificado de Gómez-Restrepo, et al, 2008).

Hans Selye, pionero en el estudio del estrés, introdujo este concepto en el campo de la medicina en 1936 y lo definió como aquella respuesta inespecífica que ocurre frente a diversos agentes nocivos como el frío, una lesión quirúrgica, una intoxicación, el ejercicio muscular violento u otros, y se expresa en diversas respuestas del organismo. Para ello, Selye describió el Síndrome General de Adaptación, proceso donde se requiere movilizar energía física para disminuir la tensión que origina un desequilibrio entre las necesidades y las exigencias (Vélez, et al., 2010).

5.2.1. Causas de estrés

Las causas que provocan el estrés no son siempre negativas, es decir, derivadas de situaciones de peligro, dolorosas o perjudiciales. Existen también situaciones

que vivimos habitualmente, incluso situaciones más bien rutinarias, que pueden producirnos estrés sin ser necesariamente peligrosas. Ejemplos de ello son las problemáticas que sufrimos día a día, la música con alto volumen o incluso los gritos. De acuerdo con las situaciones ambientales que se presenten, el individuo tendrá que hacer frente a ellas, y, dependiendo de los mecanismos que ponga en marcha, se adaptará o no (ver figura 5) (Pérez-De la Plata & Fernández-Espinosa, 2013).

La adaptación al estrés es la respuesta del organismo, tanto fisiológica como emocional, para intentar paliar los efectos del estrés (Pérez-De la Plata & Fernández-Espinosa, 2013).

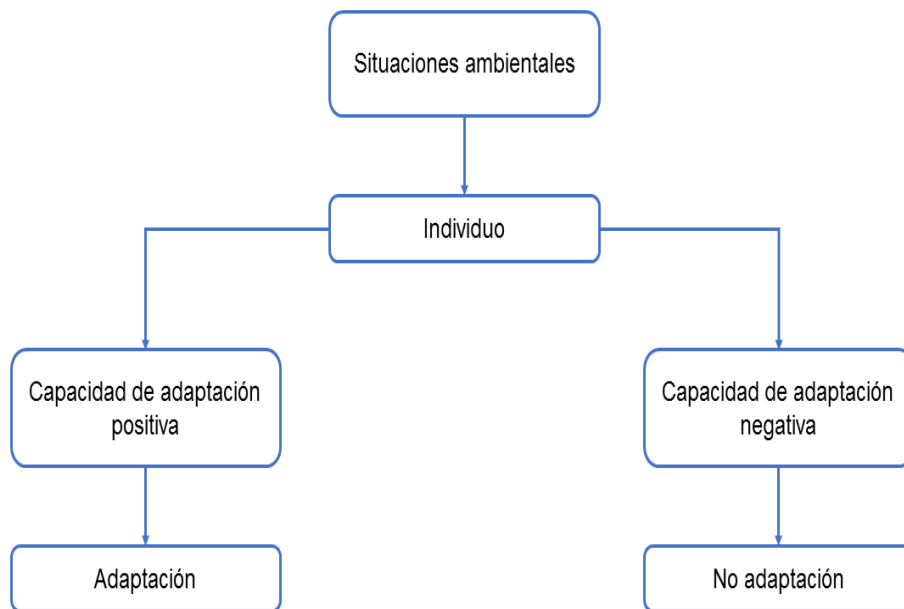


Figura 5. Adaptación del individuo al estrés (Modificado de Pérez-De la Plata & Fernández-Espinosa, 2013).

5.2.2. Estresores

Son aquellos eventos externos, estímulos o eventos vitales que desencadenan respuestas fisiológicas conocidas como estrés.

Se clasifican en cuatro categorías (Gómez-Restrepo, et al., 2008):

- Agudos: corresponden a estresores de corta duración, Por ejemplo, una cirugía o el uso de anestesia.
- De tipo parcialmente limitado en el tiempo: como un duelo o la fase de divorcio.
- Crónicos intermitentes: tratamientos terapéuticos intermitentes o exámenes.
- Crónicos: por ejemplo, desempleo, guerras, desnutrición o cuidar de una persona enferma.

Estudios demuestran que cada uno de los estresores producen respuestas inmunológicas y endocrinas distintas, lo que sugiere que existe un patrón de respuesta definido para cada tipo de estresor (Gómez-Restrepo, et al., 2008).

5.2.3. Regulación del estrés

La respuesta al estrés está regulada por diversas estructuras en el cerebro, estas son: el hipotálamo (encargado de coordinar respuestas emocionales, secreciones hormonales y funciones vitales), la amígdala, el sistema límbico, el neocórtex o corteza prefrontal, el núcleo accumbens (parte de los ganglios basales), el sistema nervioso autónomo, endocrino y el sistema inmune (Vélez, et al., 2010) ;(Gómez-Restrepo, et al., 2008).

Sin embargo, el hipotálamo, la amígdala y el lóbulo frontal forman una estructura neurobiológica eficiente para regular la respuesta de estrés. El lóbulo frontal percibe el peligro, la amígdala coteja la información con su archivo emocional y el hipotálamo estimula secreciones hormonales, que, en milésimas de segundo, originan una respuesta de adaptación integral, que posteriormente será coordinada por el lóbulo frontal (Vélez, et al., 2010).

5.2.4. Eje HHA del estrés

El eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HHA) está compuesto principalmente por la hormona liberadora de corticotropina (CRH), con cuerpos celulares en el núcleo paraventricular del hipotálamo, la hormona adrenocorticotropica (ACTH) proveniente de la hipófisis anterior y los glucocorticoides de la corteza suprarrenal (ver figura 6). Este sistema regula la respuesta de los mamíferos al estrés (ver figura 7) (Goldberg, et al., 2010).

La respuesta fisiológica más importante en las reacciones de estrés es justamente la liberación de glucocorticoides por las glándulas suprarrenales. Esta respuesta está regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HHA) cuyo control central es ejercido por un conjunto de neuronas neurosecretoras del núcleo paraventricular hipotalámico (NPV). El núcleo NPV regula la actividad del eje HHA mediante dos grupos celulares, el primero está constituido por neuronas que sintetizan hormonas y las liberan en la neurohipófisis (tal como arginina-vasopresina y oxitocina); el segundo grupo lo constituyen neuronas o neuropéptidos, como la CRH que es llevada por el sistema porta hipofisiario hacia la adenohipófisis. Al ser estimuladas por los estresores, las neuronas del NPV secretan en alta cantidad neuropéptidos que llegan a la adenohipófisis, allí la CRH y la arginina-vasopresina (AVP) inducen la secreción de la ACTH que es liberada a la sangre periférica. El aumento de ACTH en la sangre es el estímulo fundamental para el inicio de síntesis y secreción de glucocorticoides en la corteza suprarrenal que son liberados al torrente sanguíneo para movilizar la energía (Vélez, et. al, 2010). Finalmente, los glucocorticoides (cortisol en humanos y corticosterona en aves y roedores) ejercen una retroalimentación negativa a nivel del hipotálamo, la hipófisis, el hipocampo y la corteza prefrontal, lo que lleva a la finalización de la respuesta de estrés, actuando principalmente sobre receptores a glucocorticoides tipo II. En el estrés crónico es posible que este mecanismo se vea afectado generando hipercortisolemia, que generalmente desencadena cuadros depresivos (Vélez, et al., 2010).

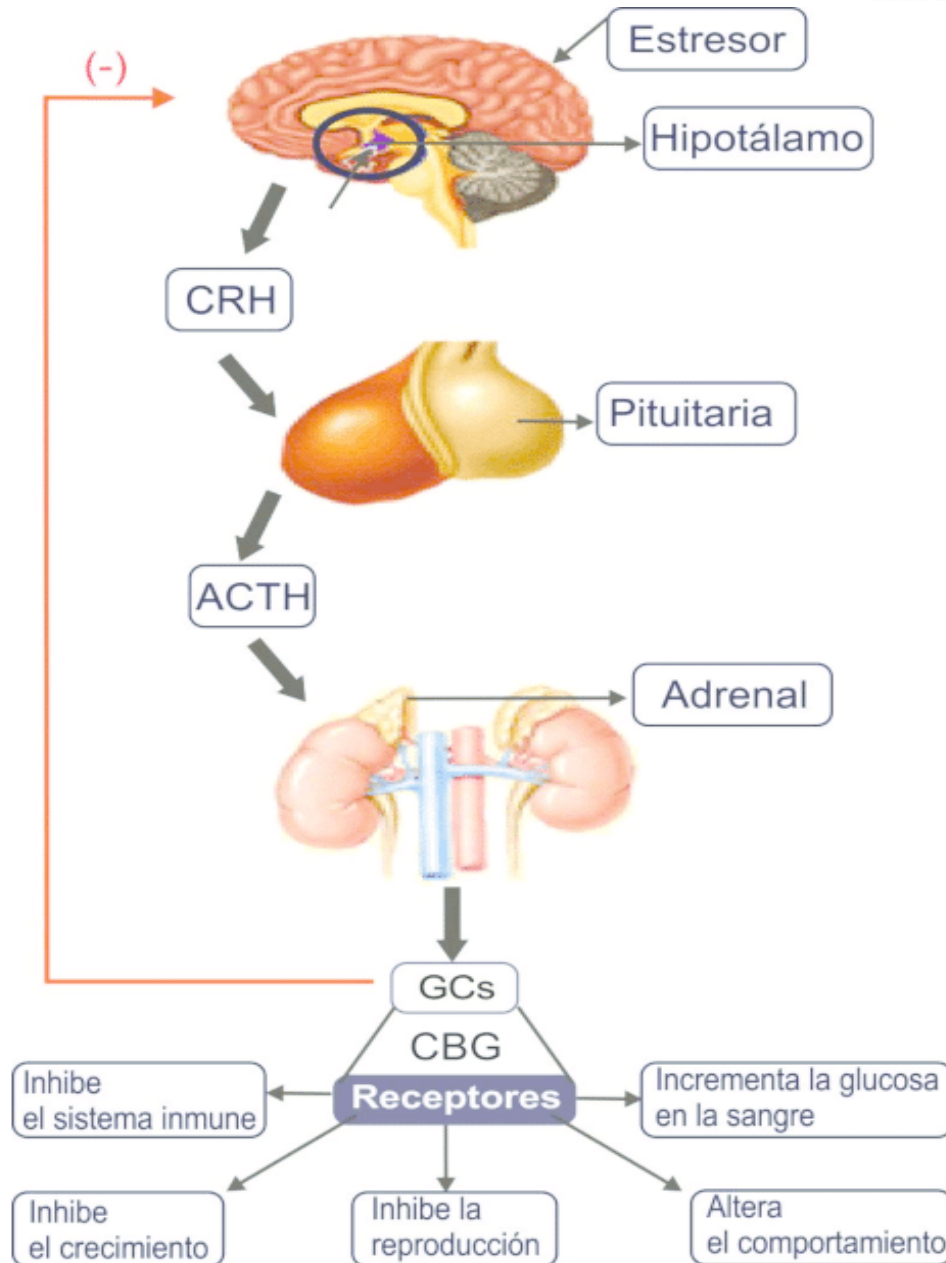


Figura 6. Componentes y ruta de activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA), desde la percepción del estresor hasta la activación de la retroalimentación negativa que ejercen los glucocorticoides (GC) en el hipotálamo (flecha naranja). Recuperado de: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Ruta-de-activacion-del-eje-hipotalamo-pituitaria-adrenal-HPA-desde-que-es_fig8_298807968

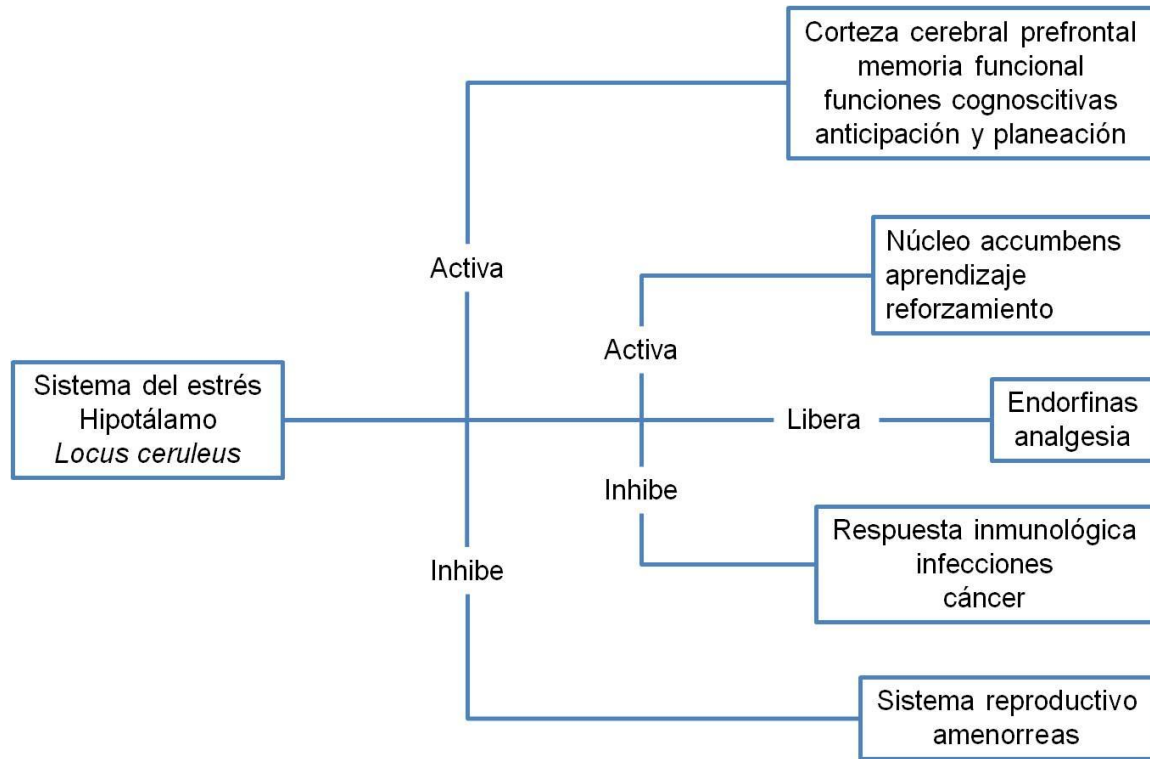


Figura 7. Función del sistema de estrés, según la teoría de Crousos y Gold (Modificado de Vélez, et al., 2010).

5.2.5. Alteraciones fisiológicas asociadas al estrés

Se ha descrito que la hipercortisolemia y, en general, el aumento de glucocorticoides asociado a estrés tiene importantes efectos neurotóxicos sobre el hipocampo, con pérdida neuronal y menor neurogénesis. De esta manera, los déficits cognitivos, particularmente de ciertas formas de memoria, son frecuentes en pacientes depresivos (Trucco, 2002).

Tanto el estrés como la inflamación son procesos capaces de activar el sistema de citocinas. Éstas pueden tener un efecto depresivo, ya sea por la activación directa del sistema CRH, o indirectamente, provocando resistencia de los receptores de glucocorticoides, esto genera la hiperactividad del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal debido a que deteriora el mecanismo de retroalimentación negativa del

eje. Esto abre la posibilidad de que las citocinas postinflamatorias alteren la neurotransmisión monoaminérgica en múltiples sitios del sistema nervioso central (SNC). Así mismo, existen receptores neuronales a citocinas ampliamente distribuidos en el SNC, lo que sugiere que las citocinas funcionan como neurotransmisores y ejercen una acción directa sobre el cerebro (Trucco, 2002).

Por otra parte, algunos estudios demuestran que las experiencias traumáticas aumentan el riesgo para desarrollar trastornos tanto en hombres como en mujeres, así como el efecto acumulado de situaciones traumáticas desde la niñez. Por lo tanto, aquellos individuos con antecedentes de estrés acumulado en la infancia tienen mayor probabilidad de presentar trastornos psiquiátricos asociados al estrés en la etapa adulta (Trucco, 2002).

Se ha demostrado la existencia de interacciones entre factores genéticos y experiencias traumáticas tempranas que resultan en sistemas CRH y noradrenérgicos hiperactivos, los cuales son los principales mediadores de las respuestas de estrés. Ambos sistemas ejercen una amplia influencia en el sistema nervioso central y en la periferia. Las perturbaciones de los sistemas neuroendocrino e inmunológico pueden persistir hasta la edad adulta, provocando una respuesta excesiva ante diversas fuentes de estrés. Esta respuesta al estrés es la base de muchos trastornos depresivos y de ansiedad (ver figura 8) (Trucco, 2002).

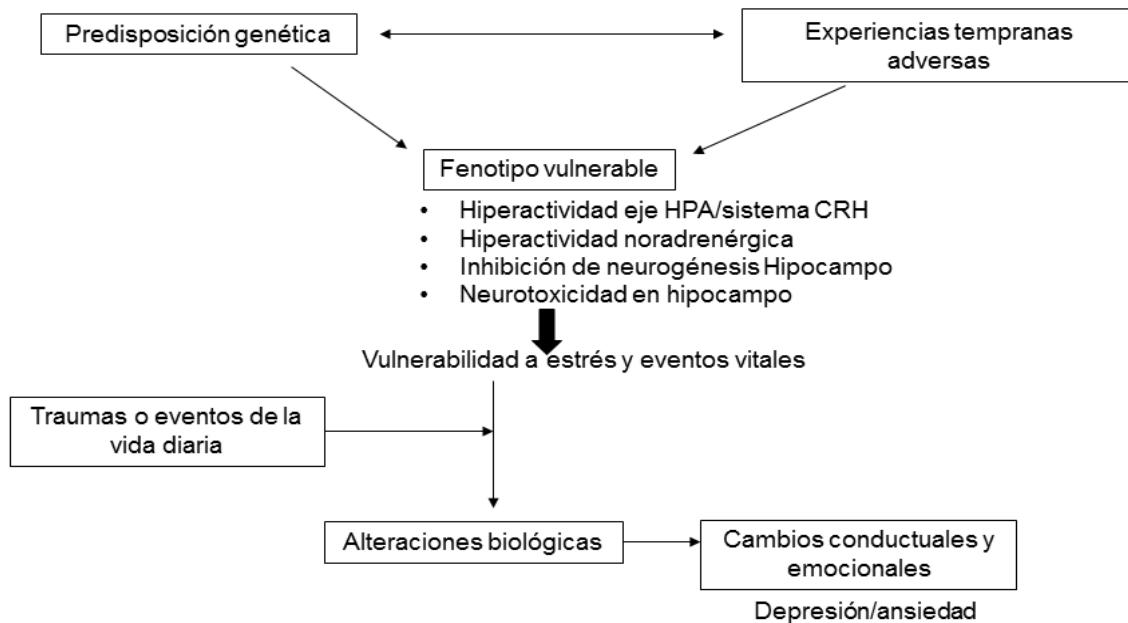


Figura 8. Modelo de "diátesis - estrés" de los trastornos afectivos (Recuperado de Trucco, 2002).

5.2.6. Trastornos neurológicos asociados al estrés

El estrés psicológico tiene un rol importante en el desencadenamiento y evolución de los trastornos mentales, particularmente los trastornos por estrés postraumático, trastornos de ansiedad y depresión, entre otras (Trucco, 2002).

5.2.6.1. Ansiedad

Es posible distinguir dos tipos de ansiedad: la "normal" y la "patológica"; la ansiedad normal es una respuesta ventajosa a una situación amenazante que acompaña a muchos aspectos de la vida diaria. Mientras que la ansiedad patológica es una respuesta inadecuada a un estímulo externo o interno (Fuchs & Flügge, 2006).

Así, es posible definir al trastorno de ansiedad como una sensación subjetiva que se acompaña de respuestas corporales hacia una amenaza similar a las que ocurren en el miedo, pero a diferencia de este último, la amenaza ya desapareció, pero la respuesta persiste (Rodríguez-Landa, et al., 2012).

Los principales síntomas para el trastorno de ansiedad incluyen dolor torácico, palpitations, disnea, aprensión y/o miedo (Stein & Hollander, 2002). Así como inquietud motora, fatiga, dificultad para concentrarse, irritabilidad y tensión muscular. Puede causar diversas algias, temblor y dificultad para relajarse, así como trastorno del sueño (dificultad para conciliarlo, mantenerlo o sueño inquieto no reparador), mareos, sudoración excesiva, sequedad en la boca, náuseas o diarrea. Todos estos aspectos pueden variar de paciente a paciente. Sin embargo, deben estar presentes de manera continua, la mayor parte del tiempo, en un periodo no menor a seis meses (Vélez, et al., 2010).

En circunstancias normales, el sistema nervioso humano se encuentra preparado para advertir y movilizar al individuo en una de tres direcciones frente a una amenaza objetiva y físicamente peligrosa: se puede luchar (atacar o defenderse de la fuerza u objeto temido), huir (abandonar el campo) o bien, permanecer en un estado de bloqueo. Sin embargo, el rasgo característico del trastorno de ansiedad es que el individuo que lo padece percibe una amenaza poderosa, y presenta actividad de los elementos fisiológicos asociados, cuando no existe un peligro real; es decir, un individuo con trastorno de ansiedad ve la amenaza y reacciona a ella, pese a su inexistencia (Stein & Hollander, 2002). A diferencia de este estado patológico, en el miedo estas respuestas fisiológicas y conductuales se presentan ante una amenaza conocida, definida y no conflictiva, por lo que se le considera una respuesta normal (Stein & Hollander, 2002).

En el trastorno de ansiedad se han involucrado alteraciones de los sistemas neuroquímicos y neurotransmisores, que incluyen la noradrenalina, el cortisol y

otros sistemas neuroquímicos que median en la respuesta al estrés (Stein & Hollander, 2002).

Actualmente, la mayoría de las situaciones que nos rodea (laboral, familiar o personal) genera grandes dosis de tensión, que producen en el individuo un estado de inquietud y malestar, que en muchos casos desencadena dolencias físicas (figura 9). Cuando la demanda del ambiente es excesiva en relación con los recursos de afrontamiento que posee el individuo, éste desarrollará una serie de reacciones adaptativas que implican activación fisiológica. Esta reacción se acompaña de una serie de emociones negativas (desagradables), entre las que destacan la ansiedad, la ira y la depresión (Pérez-De la Plata & Fernández-Espinosa, 2013).

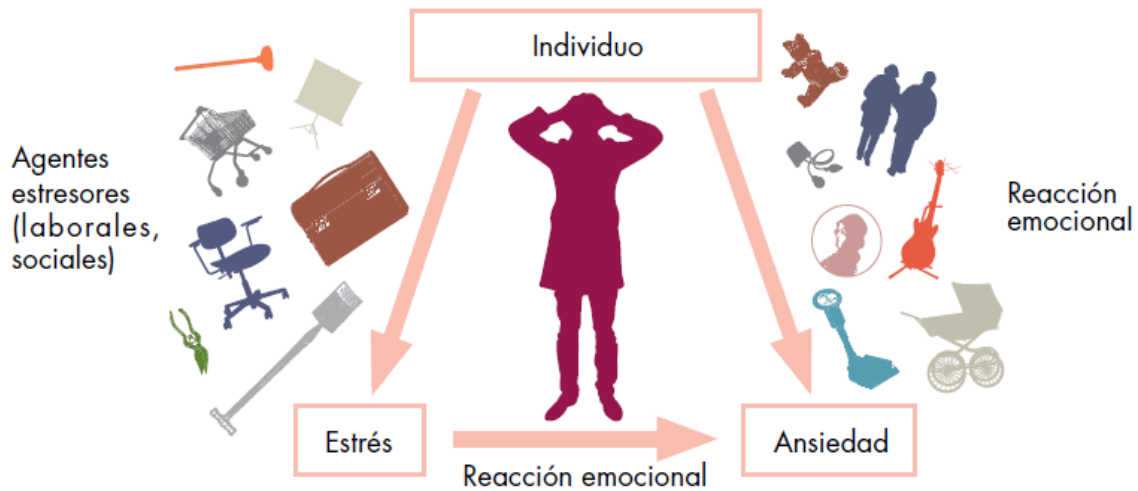


Figura 9. Individuo, estrés y ansiedad (Recuperado de Pérez-De la Plata & Fernández-Espinosa, 2013).

5.2.6.1.1. Clasificación de los trastornos de ansiedad.

Con la publicación del DSM-IV, actualmente se conocen 13 categorías de trastornos de ansiedad, mencionadas en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los trastornos de ansiedad (Modificado de Stein & Hollander, 2002).

Tipos de trastornos de ansiedad
Trastorno de angustia o trastorno de pánico sin agorafobia
Trastorno de angustia con agorafobia (miedo a lugares y situaciones que pueden ocasionar pánico, impotencia o vergüenza)
Agorafobia sin historia de trastorno de angustia
Fobia social
Fobia específica
Trastorno de ansiedad generalizada
Trastorno obsesivo-compulsivo
Trastorno por estrés postraumático
Trastorno por estrés agudo
Trastorno de ansiedad debido a una enfermedad médica
Trastorno de ansiedad inducido por sustancias
Trastorno mixto ansioso-depresivo
Trastorno de ansiedad no especificado

5.2.6.2. Depresión

Los cuadros psiquiátricos más estudiados y mejor conocidos en términos de la relación entre neurobiología, fuentes de estrés ambiental, particularmente eventos vitales significativos y experiencias tempranas, son justamente los trastornos depresivos (Trucco, 2002).

La depresión es un trastorno psicológico complejo, que en el sistema de diagnóstico DSM-V-R (manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales) se define por la presencia de al menos un síntoma central combinado con una serie de síntomas subsidiarios adicionales (Willner, et. al, 1992). Es decir, la depresión es aquel trastorno del estado de ánimo caracterizado por anhedonia (incapacidad para experimentar placer), desesperanza, tristeza, culpa, apatía, pérdida de interés, insomnio, sentimientos y pensamientos suicidas (Herrera-Pérez, et. al, 2008). Otros síntomas frecuentes son los trastornos del sueño, las alteraciones psicomotoras (inhibición o agitación), diversas molestias somáticas y síntomas autonómicos, compromiso del apetito y del peso, alteraciones en la sexualidad, fallas de la concentración y la memoria, baja autoestima y visión pesimista del futuro (Carvajal, 2005).

Entre los factores más potentes que desencadenan o inducen episodios depresivos se encuentran los eventos estresantes de la vida. Se considera que dichos eventos perturban la homeostasis de un organismo de una manera que puede conducir a un desequilibrio duradero en los sistemas de neurotransmisores, neuroendocrinos y hormonales capaz de desarrollar una enfermedad psiquiátrica (Fuchs & Flüggge, 2006).

5.2.6.2.1. Episodio depresivo mayor

La característica fundamental de este episodio (EDM) es un curso clínico caracterizado por uno o más episodios depresivos mayores, esto es, un periodo de por lo menos dos semanas, durante las cuales existe ya sea un ánimo deprimido o la pérdida del interés en todas (o casi todas) las actividades diarias (López-Ibor & Valdés-Miyar, 2005).

Para diagnosticar a alguien con trastorno depresivo mayor, además de alguno de los síntomas antes mencionados, deben estar presentes al menos cuatro síntomas adicionales mostrados en la tabla 2.

Tabla 2. Criterios diagnósticos del episodio depresivo mayor (Modificado de Vélez, et al., 2010).

Deben estar presentes cuatro de los siguientes síntomas:
Ausencia de reacciones emocionales ante situaciones que normalmente las producen
Despertarse por las mañanas dos horas antes de lo habitual
Empeoramiento matutino del estado depresivo
Enlentecimiento motor o agitación
Perdida del apetito
Perdida marcada de peso
Disminución de la libido

5.3. Enriquecimiento ambiental

Desde hace casi 200 años los animales se han mantenido en cautiverio para fines científicos. Sin embargo, pasaron muchos años antes de que el impacto que tiene este cautiverio en los animales se convirtiera en una preocupación. Con ello, en el año de 1920, el primatólogo Robert Yerkes fue una fuerza pionera detrás de las mejoras en las condiciones de alojamiento de primates no humanos tanto en zoológicos como en laboratorios (Simpson & Kelly, 2011).

Dicha preocupación y la presión pública sostenida ha generado una obligación creciente para la implementación generalizada de políticas de enriquecimiento ambiental (EA) en los laboratorios que usan animales como sujetos de experimentación. Con esto, en 1997 la Comisión de la UE emitió una resolución sobre el alojamiento y el cuidado de animales de laboratorio, que definía el “enriquecimiento” en términos de interacción social, uso del espacio relacionado con la actividad y provisión de estímulos y materiales apropiados. En el año 2007, la Comisión emitió directrices para el “Alojamiento y cuidado de animales

utilizados con fines científicos y otros”, que incluían una sección titulada “Alojamiento, enriquecimiento y cuidado” (Simpson & Kelly, 2011).

El EA se define como el uso de condiciones de alojamiento que ofrecen una estimulación sensorial, motora y cognitiva mejorada de los sistemas neuronales del cerebro en comparación con el alojamiento estándar y, alternativamente, como la adición de características biológicamente relevantes al entorno de la jaula para facilitar o permitir la ejecución de comportamientos motivados naturales (Toth, et al., 2011).

Los paradigmas de un EA suelen incorporar características como vivienda social, recintos más grandes y complejidad ambiental, por ejemplo, la presencia de objetos que pueden manipularse, estructuras para escalar o hacer ejercicio, oportunidades de alimentación, incluso áreas para esconderse o anidar (Toth, et al., 2011). Para tal caso, el EA se divide en dos tipos: enriquecimiento físico y enriquecimiento social. Las estrategias de enriquecimiento físico implican modificaciones estructurales, incluido un mayor espacio en el suelo y la inclusión de características que permitan el ejercicio, el juego, la exploración y que permitan a los animales cierto control sobre su entorno; esto incluye (en el caso de las ratas) túneles de plástico, objetos de madera para roer, cuerdas, columpios, ruedas para correr, pelotas, rampas, escaleras y otros juguetes para animales de tamaño adecuado; mientras tanto, el enriquecimiento social está basado en alojar animales en grupos sociales siempre que sea posible. Para enriquecer un ambiente, es preferible una combinación de elementos de enriquecimiento social y físico (Simpson & Kelly, 2011).

La relevancia del enriquecimiento ambiental para los roedores de laboratorio fue reconocida formalmente y por primera vez por el neuropsicólogo Donald Hebb en la década de 1940, quien observó que las ratas de laboratorio a las que se les daba libertad para deambular en su casa como mascotas tenían habilidades

superiores para resolver problemas y aprender, en comparación con ratas alojadas en condiciones estándar de laboratorio (Simpson & Kelly, 2011).

En su ambiente natural, las ratas se involucran en actividades nocturnas, como construcción de nidos y madrigueras, coprofagia (consumo de heces), tigmotaxis (preferencia por la periferia de un nuevo ambiente), búsqueda de alimento y roer; sin embargo, en cautiverio, los roedores exhiben comportamientos estereotipados desadaptativos, tales como acicalamiento excesivo que causa la pérdida de cabello y bigotes, y mordeduras de las rejas de la jaula. Por ello una de las razones del creciente interés por el EA es que tales repertorios de conductas desadaptativas pueden interferir con estudios en los que la investigación tiene como objetivo monitorear etológicamente la conducta natural de un animal; la perseverancia y las estereotipias que puedan afectar el aprendizaje, sobre todo si se desea observar la actividad natural en experimentos de comportamiento, para estos casos es importante desarrollar métodos de complejidad ambiental biológicamente apropiados para los animales y con ello tratar de reducir este tipo de estereotipias (Simpson & Kelly, 2011).

5.3.1. EA como fuente de plasticidad para mejorar funciones cerebrales.

Para algunas preguntas experimentales, la aplicación de investigación de EA ha contribuido a importantes conocimientos sobre los mecanismos de la enfermedad y la recuperación del daño causado por la enfermedad (Toth, et al., 2011).

La exposición a EA se ha asociado con alteración de la neurogénesis, la química y la función cerebral; con ello se han reportado beneficios importantes para el tratamiento de la depresión y el retraso mental, la vulnerabilidad a las drogas de abuso y los déficits cognitivos y funcionales en modelos de envejecimiento, accidente cerebrovascular, enfermedades neurodegenerativas y epilepsia (Toth, et al., 2011).

Cabe destacar que los ambientes en cautiverio pueden limitar la oportunidad de un animal para desplegar algunos aspectos de su repertorio conductual normal, sin embargo, si el animal se mantiene durante una parte relativamente corta de su vida en un EA, este puede brindar bienestar animal reflejado por un crecimiento, desarrollo y reproducción normales con baja probabilidad de lesión, enfermedad, angustia o comportamiento desadaptativo (Toth, et al., 2011).

Por otro lado, algunos estudios demostraron que las condiciones de alojamiento en un ambiente enriquecido mejoran la estimulación sensorial, cognitiva, motora y social que influye en la función cerebral (Petrosini, et al., 2009). De este modo, la exposición del roedor a ambientes enriquecidos refuerza la neurotransmisión sináptica y la plasticidad, así como la disminución de apoptosis de las neuronas en regeneración y aumenta la expresión de moléculas implicadas en la señalización neuronal. Estos cambios en el cerebro mejoran los siguientes procesos: Función del hipocampo, potenciación a largo plazo (LTP), neurogénesis, crecimiento de las espinas dendríticas y activación de la proteína de unión al elemento de respuesta al AMPc (monofosfato de adenosina cíclico) (segundo mensajero involucrado en la transcripción de genes que median la progresión del ciclo celular), entre otros (Petrosini, et al., 2009). Estos procesos a su vez, mejoran el aprendizaje y la memoria, y están implicados en la recuperación de enfermedades neurodegenerativas, lesiones cerebrales y trastornos psiquiátricos, estudiadas en modelos animales (Simpson & Kelly, 2011).

Esto sugiere que la constante estimulación de la plasticidad cerebral mediante la exposición de sujetos experimentales a ambientes enriquecidos sirve como “barrera protectora” frente a diversos padecimientos neuropsiquiátricos. De esta manera, la estimulación mental y física con entornos complejos permite reforzar la conectividad sináptica y proporciona medios por los que las redes neuronales se utilizan de forma eficiente para satisfacer las demandas del entorno y hacer frente a potenciales daños cerebrales (Petrosini, et al., 2009).

En los humanos, los factores que estimulan la plasticidad cerebral incluyen: comportamientos de una buena salud en el estilo de vida activo, actividad lectora, ejercicio físico, formación musical (tocar un instrumento), actividad social, etc. (Petrosini, et al., 2009).

En los roedores, el fortalecimiento de las conexiones sinápticas tiene lugar a partir de una serie de estímulos ambientales que favorecen la generación de cambios plásticos (funcionales y fisiológicos) que, al igual que en los humanos, promueven mejoras cognitivas y los protegen contra daños neuronales (Calle-Sandoval, et al., 2020).

5.4. Modelos animales de ansiedad y depresión.

En psiquiatría experimental, los modelos animales son una herramienta importante para estudiar las teorías neuropsicológicas de trastornos específicos, como la depresión o la ansiedad (Herrera-Pérez, et al., 2008). Puede definirse a los modelos animales como preparaciones experimentales desarrolladas en una especie con el propósito de estudiar fenómenos que ocurren en otra especie; en el caso de los modelos animales de la psicopatología humana se busca desarrollar síndromes en los animales semejantes a los que ocurren en humanos. Estos modelos son herramientas indispensables para la investigación de los mecanismos neurobiológicos que subyacen los desórdenes psiquiátricos y para el desarrollo de nuevos tratamientos (Fuchs & Flügge, 2006). La relevancia de emplearlos radica en intentar capturar características de la condición humana, desde cambios fisiológicos y de comportamiento que son indicativos del estado emocional hasta la etiología de la enfermedad y los efectos de las intervenciones terapéuticas (Fuchs & Flügge, 2006).

En general, los modelos animales no intentan simular la complejidad total de un síndrome psiquiátrico, si no de seleccionar características particulares, que pueden ser más o menos apropiadas para los problemas que el modelo va a abordar (Willner, et al., 1992).

El desarrollo de modelos animales válidos de trastornos psiquiátricos sólo puede llevarse a cabo si existen procedimientos que permitan evaluar la validez de estos modelos animales (Willner, et al., 1992). Esta validez se determina por la inclusión de tres criterios, primero, la validez predictiva, seguido de la validez de apariencia y por último la validez de constructo (Willner, et al., 1992). La validez predictiva se refiere a la exactitud de las predicciones realizadas a partir del modelo, especialmente en lo que respecta a las acciones de los fármacos, la validez de apariencia hace hincapié a la similitud fenomenológica entre el modelo y el trastorno modelado y por último la validez de constructo se ve determinada por una justificación teórica del modelo (Willner, et al., 1992).

Estos métodos se utilizaron por primera vez para evaluar la validez de los modelos animales de depresión, desde entonces, se han aplicado ampliamente tomando en cuenta que un modelo animal válido debe mostrar un parecido con los síntomas centrales del trastorno definido clínicamente, más que con los síntomas subsidiarios (Willner, et al., 1992).

5.4.1. Modelos animales de depresión

Los primeros modelos de estados depresivos en animales se basaron en experimentos de separación materna en infantes de primates no humanos. En el caso de los roedores, la manipulación del entorno de vida temprana como estrés prenatal y la separación materna produce cambios biocomportamentales que persisten hasta la edad adulta, representando un factor de riesgo para la psicopatología (Fuchs & Flügge, 2006).

Los modelos de depresión en animales se utilizan principalmente para dos propósitos: como pruebas de detección de fármacos con potencial antidepresivo y como simulaciones para estudiar la neurobiología de la depresión (Willner, et al., 1992).

5.4.2. Modelos animales de ansiedad

Para el caso de estos modelos la mayoría de los paradigmas experimentales implican la exposición de los animales a estímulos externos (p. ej., choques eléctricos de baja intensidad, luz brillante o exposición a un depredador) o estímulos internos (p. ej., fármacos) que inducen ansiedad. De manera que, en estas configuraciones experimentales, los sujetos experimentan una ansiedad normal en un momento determinado y su estado emocional se ve potenciado por un estímulo ansiogénico externo (Fuchs & Fliugge, 2006).

Estos modelos se distinguen según las siguientes categorías (Fuchs & Fliugge, 2006):

1. Modelos basados en respuestas incondicionadas; y

Dividida en 3 principales subgrupos

- Modelos basados en la conducta exploradora de roedores (p. ej., prueba del laberinto elevado en cruz y la prueba de luz-oscuridad).
- Modelos basados en la conducta social de roedores (prueba de interacción social) o primates no humanos (amenaza humana).
- Modelos basados en reacciones de estrés somático (p. ej., hipertermia inducida por estrés).

2. Modelos basados en respuestas condicionadas.

Por otro lado, los modelos animales de ansiedad y depresión se basan en el estrés para generar conductas tipo depresivas y ansiosas, ejemplos de éstos son los siguientes:

5.4.3. Laberinto elevado en cruz (ansiedad):

Actualmente, la mayoría de los estudios que utilizan modelos animales de ansiedad emplean procedimientos que se basan en la conducta natural de los animales. Entre estos destacan la prueba del laberinto elevado en cruz, que se ha

convertido en una de las pruebas de conducta más populares (Fuchs & Flugge, 2006).

El laberinto elevado en cruz (LEC) es uno de los modelos eto-experimentales de ansiedad más utilizados, este modelo se basa en la libre exploración que despliegan los roedores frente a un ambiente novedoso y consta de un laberinto en forma de cruz dispuesto sobre una plataforma para proporcionar altura (50 cm del suelo), conformado por 4 brazos, dos de ellos son abiertos, mientras que los otros dos están rodeados por paredes (brazos cerrados). A través de la arquitectura del laberinto, el roedor elige entre dos zonas distintas para la exploración: un par de brazos potencialmente peligrosos (brazos abiertos) y un par de brazos seguros (brazos cerrados) (Celis, et al., 2010).

El laberinto elevado en cruz es un modelo válido para evaluar la ansiedad, ya que utiliza respuestas naturales de los roedores como el miedo a los espacios abiertos y a caminar sobre una plataforma elevada y relativamente estrecha, generándoles ansiedad (Rejón-Orantes, et al., 2011).

De esta manera, en el LEC un aumento en el tiempo de permanencia y en el número de entradas en brazos abiertos indica una disminución de la conducta tipo ansiosa.

5.4.4. Prueba de enterramiento defensivo (ansiedad):

La prueba de enterramiento defensivo ha sido un modelo importante en la investigación básica en los últimos 25 años, destacando la metodología/etología, psicofarmacología y neurobiología de esta respuesta de afrontamiento o evitación activa y específica de la especie (De Boer & Koolhaas, 2003).

Esta prueba destaca una reacción conductual natural de los roedores (conducta de enterramiento) emocionalmente negativa ante una variedad de estímulos nocivos que representan una amenaza. La conducta de enterramiento consiste en desplazar el material de cama con movimientos vigorosos de sus patas delanteras

y movimientos de pala de su cabeza dirigidos hacia estímulos que el roedor encuentra desagradables, aversivos o que representan una amenaza cercana e inmediata, como una descarga eléctrica. Pinel et al. (1978), originalmente designaron este comportamiento característico como "enterramiento defensivo" e introdujeron el llamado paradigma de enterramiento defensivo ante un electrodo que da choques eléctricos en los campos de investigación neurocientíficos y psicofarmacológicos (De Boer & Koolhaas, 2003).

Al enterrar objetos desconocidos y/o dañinos, los roedores pueden evitar (es decir, mantenerse alejados) o eliminar con éxito los peligros aversivos y posiblemente mortales de su hábitat. Junto con la huida, la congelación y la lucha, el enterramiento defensivo constituye parte del repertorio conductual de reacciones defensivas incondicionadas específicas de la especie que están disponibles de forma fácil e innata para el animal. La conducta de enterramiento de los roedores se ha utilizado ampliamente como un índice de miedo/ansiedad en estudios preclínicos sobre la neurobiología y la farmacología de la ansiedad humana (De Boer & Koolhaas, 2003).

El tiempo que tarda el roedor en desplegar la conducta de enterramiento después de recibir el primer choque eléctrico (latencia de enterramiento) es un indicador de la reactividad del animal ante el estímulo, que se usa para medir el umbral de respuesta, mientras que el tiempo de enterramiento indica un estado de ansiedad (García-Ríos, 2013).

5.4.5. Prueba de nado forzado (depresión):

La prueba de nado forzado (PNF) es una prueba conductual en roedores que fue desarrollada en 1978 por Porsolt y colegas como modelo para predecir la eficacia clínica de los fármacos antidepresivos. También es una de las pruebas más utilizadas para evaluar el comportamiento depresivo en modelos animales (Bogdanova, et al., 2013).

Esta prueba conductual consiste principalmente en el empleo de cilindros de vidrio (40 cm de altura aprox.) llenos de agua (15-17 cm) con la finalidad de colocar a los roedores dentro de los mismos y que aparentemente no puedan escapar, sin embargo, este nivel de agua les permitía a las ratas pararse en el fondo de los cilindros dando como resultados falsos positivos (Detke & Lucki, 1996).

Fueron Detke y colaboradores quienes más tarde (1996) hicieron algunas modificaciones a la PNF para generar conductas activas (nado y escalamiento), esto lo lograron aumentando la altura de la columna de agua a 30 cm, bajo estas condiciones los animales no pueden tocar el fondo del cilindro con las patas o la cola y se ven obligados a nadar dentro de los cilindros; además, este nivel de agua es lo suficientemente bajo para evitar que se escape por la abertura superior del cilindro. Esta PNF modificada es la que se usa comúnmente en la actualidad para estudiar la neurobiología de la depresión y su tratamiento (Detke & Lucki, 1996).

La PNF básica consiste en dos sesiones, donde los animales son colocados en un cilindro que contiene agua a 25 °C, de la que no pueden escapar. La primera sesión es una prueba previa de 15 minutos seguida 24 horas después por una sesión de prueba de 5 minutos. La prueba previa es un factor estresante que se cree que induce un estado de desesperanza conductual o una estrategia pasiva de afrontamiento ante estrés, ya que los animales se vuelven más inmóviles a medida que avanza la sesión de prueba. La típica postura de inmovilidad se caracteriza por flotar en el agua con solo los movimientos necesarios para mantener la nariz sobre la superficie. Un mayor tiempo de inmovilidad es la principal medida que indica mayor nivel de desesperanza (Bogdanova, et al., 2013).

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 22 ratas macho jóvenes (3 a 5 meses de edad), de la cepa Wistar, provenientes del bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM), mismas que fueron alojadas (tanto en condiciones de EA como en condiciones estándar) en grupos de 4 o 5 en cajas de acrílico transparente (43 x 53 x 20 cm), en un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 x 12 horas (la luz se encendió a las 21:00 hrs) y en condiciones controladas de humedad y temperatura. Todas las ratas tuvieron acceso libre a comida y agua. El manejo de animales se llevó a cabo bajo los lineamientos de la norma oficial NOM-062-ZOO-1999 y de la norma internacional para el uso de sujetos de experimentación (NIH publicación 85-23, 1985).

6.1. Enriquecimiento ambiental

Para el enriquecimiento ambiental se utilizó una jaula de metal con base plástica de 84 x 49 x 45 cm o de 100 x 55 x 41 cm, con una cama de aserrín y múltiples objetos y juguetes, como pelotas de plástico, pequeños cuadros de madera para roer, pequeñas figuras o juguetes de plástico, plataformas, rampas de plástico o madera, ruedas para correr, cajitas de cartón diseñadas con distintas formas simulando pequeñas refugios donde puedan explorar y resguardarse, además se usaron tiras de periódico como material para anidar y túneles hechos con tubería de PVC (de 7.5 cm de diámetro) con diferentes conformaciones para la exploración (ver figura 10).

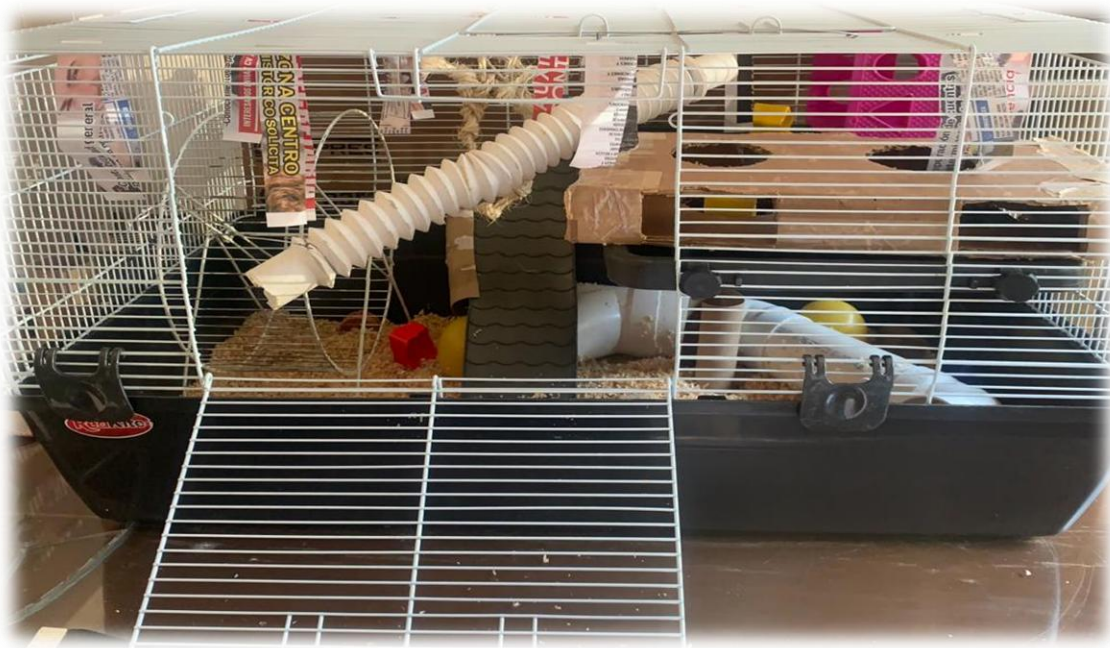


Figura 10. Diseño del enriquecimiento ambiental que consta de diferentes objetos para que el roedor pueda explorar.

6.2. Pruebas conductuales

La conducta de los animales fue evaluada en una batería de tres pruebas conductuales de ansiedad y depresión: laberinto elevado en cruz, enterramiento defensivo y prueba de nado forzado.

6.2.1. Prueba de laberinto elevado en cruz (ansiedad)

El laberinto empleado (ver figura 11) tiene forma de cruz y está dispuesto sobre una base de madera para proporcionar una altura de 50 cm e iluminado con luz roja de baja intensidad (40 watts) en un cuarto cerrado. El laberinto consta de 4 brazos (10 cm de ancho x 50 cm de largo), dos de ellos son abiertos, mientras que los otros dos (brazos cerrados) están rodeados por paredes de 40 cm de altura.

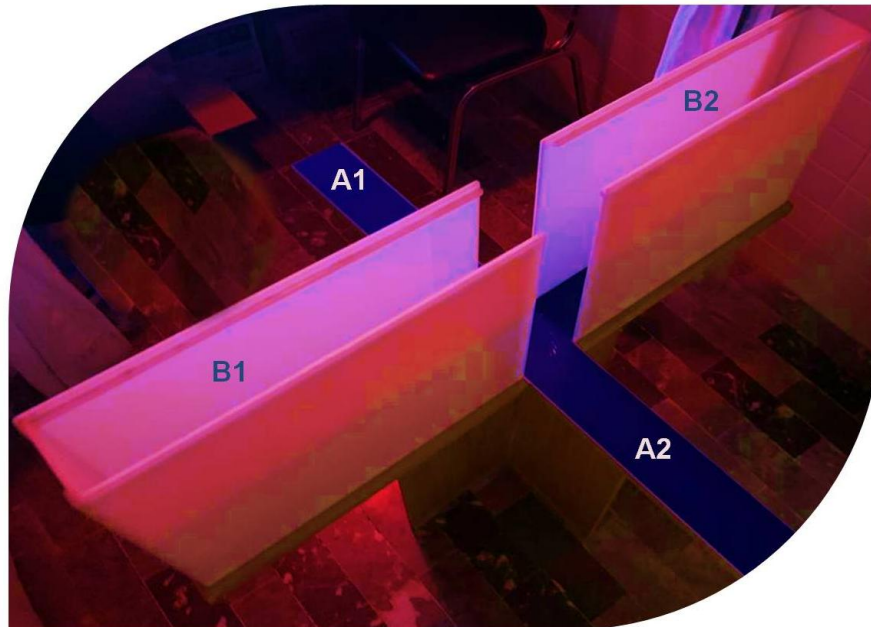


Figura 11. Laberinto elevado en cruz. El laberinto está conformado por dos brazos abiertos opuestos (A1 y A2) que son interceptados por dos brazos cerrados (B1 y B2).

En este modelo, cada animal (de ambos grupos de alojamiento) se colocó en el centro del laberinto para comenzar la exploración durante 10 minutos.

Al finalizar el experimento las ratas fueron reincorporadas a los alojamientos correspondientes.

Para evaluar la conducta tipo ansiosa de los roedores se tomaron en cuenta cuatro variables descritas a continuación:

1. Tiempo en brazos abiertos: Tiempo que las ratas permanecen en brazos abiertos durante los 10 minutos de prueba.

2. Tiempo en brazos cerrados: Tiempo que las ratas permanecen en brazos cerrados durante los 10 minutos de prueba.

3. Entradas a brazos abiertos: Número total de entradas que las ratas realizaron a los brazos abiertos del laberinto durante la prueba.

4. Entradas a brazos cerrados: Número total de entradas que las ratas realizaron a los brazos cerrados del laberinto durante la prueba.

Esta prueba se basa en el temor que tienen los roedores a los espacios abiertos y elevados, así que un aumento en el tiempo de permanencia en brazos abiertos, así como mayor número de entradas a los mismos indica una disminución de la conducta tipo ansiosa.

Después de cada sesión se removió el olor y los residuos biológicos de la rata previamente evaluada con una solución limpiadora (1.5 % de etanol, 0.05 % de NH_4OH , 0.5 % de isopropanol, 1 % de pinol y 1 % extrán), que de lo contrario la conducta espontánea de la rata subsecuente se podría modificar.

La prueba fue videograbada y el análisis conductual se realizó con el software ANY-maze 6.23 1999-2020 Stoelting Co. EE.UU.

6.2.2. Prueba de enterramiento defensivo (ansiedad).

El día 30 de enriquecimiento ambiental se llevó a cabo la prueba de enterramiento defensivo, el aparato empleado consistió en una caja de acrílico de 27.3 x 37 x 15.5 cm (ancho x largo x alto) con una cama de aserrín de 2 cm de alto. La caja contenía en una de sus paredes un electrodo de 0.5 x 7 cm (2 cm arriba de la cama de aserrín) conectado a una fuente de choques eléctricos (Lafayette Instruments, Inc.) (figura 12).



Figura 12. Prueba de enterramiento defensivo. La caja de acrílico contiene un electrodo (A1) conectado a una fuente de choques (B1) que da ligeras descargas eléctricas al roedor.

Para esta prueba se colocó a cada rata en la caja durante 10 minutos, cada vez que la rata entraba en contacto directo con el electrodo éste le daba una pequeña descarga eléctrica (0.4 mA) para provocar molestia sin inducir daño tisular (estímulo aversivo). La prueba fue videograbada para su posterior análisis. Al finalizar el experimento las ratas fueron reincorporadas a los alojamientos correspondientes.

Las conductas evaluadas para esta prueba fueron las siguientes:

1. Tiempo de enterramiento: Es el tiempo que la rata permanece enterrando el electrodo, empujando el aserrín hacia y alrededor del mismo con movimientos rápidos del hocico y de las patas delanteras. La conducta de enterramiento es considerada como una forma de evitación activa al electrodo y un índice de ansiedad.

2. Latencia de enterramiento: Tiempo que transcurre desde que la rata recibe el primer choque hasta el inicio de la conducta de enterramiento. Esta medida evalúa el tiempo de reacción del animal después de recibir el estímulo eléctrico.

3. Número de choques: Número total de choques que recibió la rata al contacto con el electrodo. Esta medida sirve para identificar los efectos de los tratamientos ansiolíticos sobre la sensibilidad al estímulo eléctrico.

Un efecto ansiolítico se indicará mediante una reducción en la latencia y tiempo de enterramiento.

6.2.3. Prueba de nado forzado (depresión)

En esta prueba los animales se forzaron a nadar en un cilindro de vidrio de 20 cm de ancho x 45 cm de alto, que contenía una columna de agua de 30 cm de altura y una temperatura de 23 - 25 °C, bajo estas condiciones la rata no podía tocar la base del cilindro con la cola ni las patas traseras. La prueba consistió en dos sesiones separadas por 24 h, la primera de ellas (preprueba) duró 15 minutos y tuvo la finalidad de generar desesperanza el roedor, la segunda sesión de nado (prueba) duró 5 minutos (figura 13) y fue videograbada para su posterior análisis.



Figura 13. En la prueba de nado forzado los roedores son forzados a nadar dentro de los cilindros con agua a una temperatura de entre 23 - 25 °C.

Durante el desarrollo de las sesiones de nado, el agua se cambió cuando fue necesario, debido a los restos biológicos que dejaba la rata.

Después de cada sesión de nado las ratas se sacaron y se dejaron secar en un recinto calentado (32 °C) antes de devolver a la caja de alojamiento correspondiente.

El análisis de los videos de la prueba consistió en evaluar el tipo de conducta (ya sea escalamiento, inmovilidad o nado) que realizaba el roedor cada 5 segundos durante toda la prueba, esto con ayuda de un cronometro.

Las conductas evaluadas fueron dos activas (escalamiento y nado) y una pasiva (inmovilidad), ésta última indica el nivel de desesperanza. La definición operacional de las conductas es la siguiente:

- Inmovilidad: La rata permanece realizando únicamente movimientos para mantener la cabeza fuera del agua (figura 14a). El nivel de desesperanza del animal se indica por la conducta de inmovilidad, mientras más tiempo permanezca inmóvil indica mayor desesperanza
- Nado: Conducta activa del roedor caracterizado por movimientos activos (nado) hacia las paredes del cilindro, considerado nado cuando la rata avanza un cuadrante del diámetro del cilindro (figura 14b).
- Escalamiento: El roedor trata de trepar las paredes del cilindro con movimientos activos dirigidos a lo largo del cilindro para intentar salir a la superficie. (figura 14c).

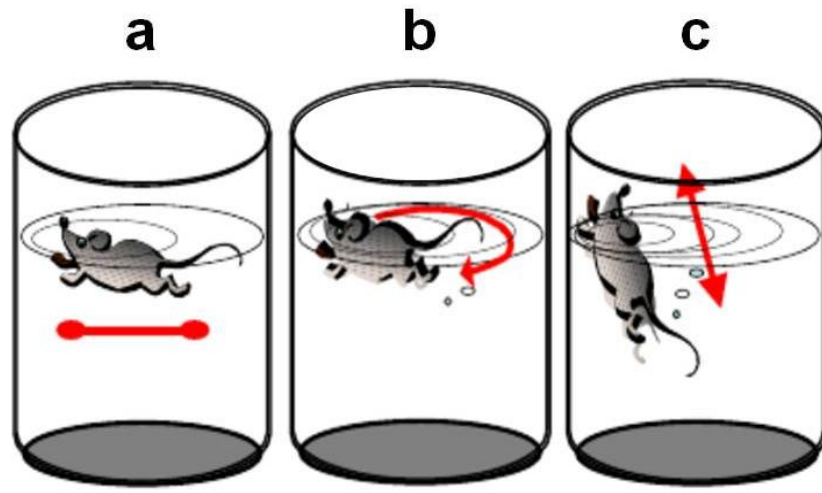


Figura 14. Prueba de nado forzado. Se muestran la conducta de inmovilidad (a), nado (b) y escalamiento (c).

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para probar si el ambiente enriquecido mejora la respuesta ante el estrés de las ratas macho jóvenes los animales se dividieron en dos grupos: uno de ellos se mantuvo en condiciones de alojamiento estándar, es decir, en cajas de acrílico transparente (43 x 53 x 20 cm) con una cama de aserrín (grupo estándar, n=11); mientras tanto, el segundo grupo se alojó en el ambiente enriquecido (grupo enriquecimiento ambiental, n=11). Los animales mantuvieron en su alojamiento respectivo durante 31 días. La limpieza de las cajas de alojamiento y el cambio de la cama de aserrín de ambas condiciones de alojamiento, así como la reestructuración del ambiente enriquecido, se realizó 2 veces a la semana. Además los objetos empleados para enriquecer el ambiente se lavaron periódicamente. Posteriormente, todos los animales se evaluaron en pruebas conductuales de ansiedad y depresión (figura 15a).

Una vez transcurridos 28 días del alojamiento, se comenzó una batería de tres pruebas conductuales de ansiedad y depresión: laberinto en cruz (día 29),

enterramiento defensivo (día 30) y prueba de nado forzado (día 31-32), la línea de tiempo de este protocolo experimental se muestra en la figura 15b.

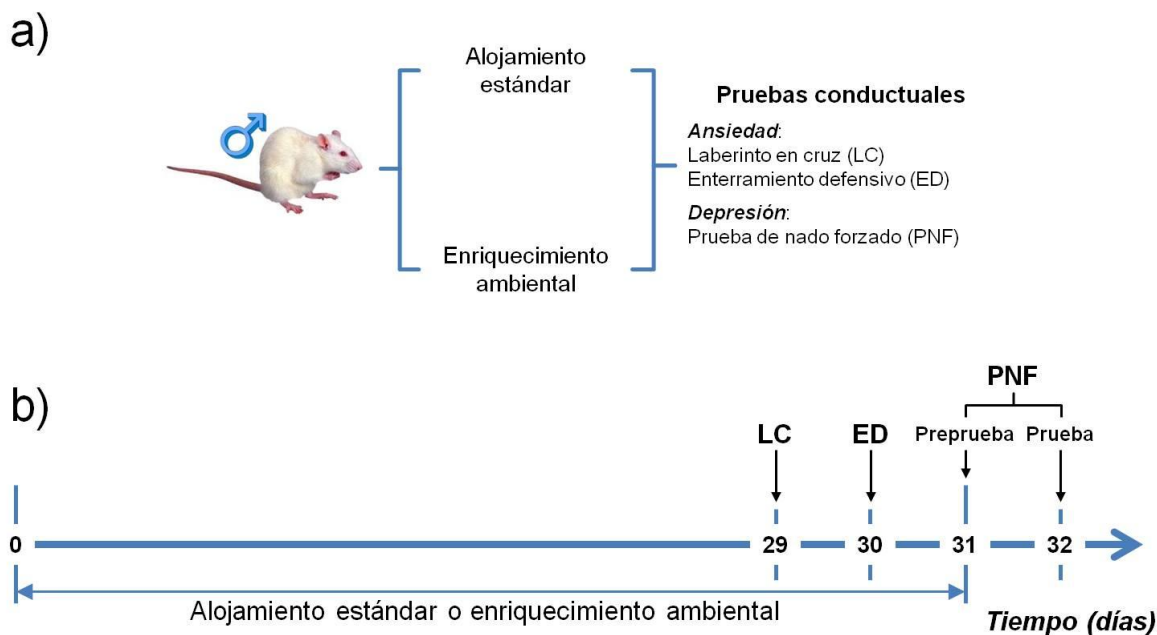


Figura 15. Diseño experimental para evaluar el efecto del enriquecimiento ambiental sobre la respuesta de estrés en ratas macho jóvenes (a). Línea de tiempo de las manipulaciones experimentales (b).

7.1. Análisis estadístico

Los resultados de cada prueba conductual fueron analizados mediante una prueba t usando el programa SigmaPlot versión 12.3 (Systat Software Inc.). Todos los resultados conductuales se expresaron en media \pm error estándar de la media (EEM). Un valor de $p < 0.05$ fue considerado como significativo.

8. RESULTADOS

8.1. Enriquecimiento ambiental

De acuerdo a la información en los artículos encontrados en la base de datos Pubmed se seleccionaron los componentes necesarios para diseñar un ambiente enriquecido, esta selección se hizo a partir de artículos en donde el ambiente enriquecido mejoró la memoria, el aprendizaje y/o promovió la plasticidad cerebral, desarrollando factores que aumentarían la resiliencia en las ratas jóvenes macho.

Los objetos del ambiente enriquecido diseñado para el presente proyecto promueven los siguientes efectos:

- *Reconocimiento de objetos y las conductas manipulativas:* pelotas de plástico, pequeños cuadros de madera y figuras de plástico que las ratas pudieran roer libremente (conducta innata).
- *Construcción de nidos:* tiras de periódico y cilindros de cartón.
- *Actividad motora y aumento de los niveles de BDNF y neurogénesis hipocampal:* plataformas, rampas de plástico o madera y ruedas para correr.
- *Exploración, descanso, escape y mejora de la memoria espacial:* cajitas de cartón con varios diseños estructurales, túneles hechos con tubería de PVC con diferentes conformaciones. Este compromiso mental y físico con entornos complejos refuerza la conectividad sináptica para que las redes neuronales ya existentes funcionen de forma eficiente, o bien, para que se recluten redes alternativas que permitan satisfacer las demandas del entorno.

8.1. Prueba de laberinto elevado en cruz (ansiedad)

Los resultados de la prueba de laberinto en cruz se muestran en la figura 16. El análisis estadístico indicó que el grupo de enriquecimiento ambiental tiene mayor tiempo de permanencia ($p < 0.05$, figura 16B) y número de entradas en brazos

abiertos ($p < 0.05$, figura 16A) que los animales de alojamiento estándar, además el tiempo de permanencia en los brazos cerrados fue menor en el grupo alojado en ambiente enriquecido ($p < 0.05$, figura 16D). Estos resultados sugieren que el enriquecimiento ambiental disminuyó la conducta tipo ansiosa de las ratas macho jóvenes.

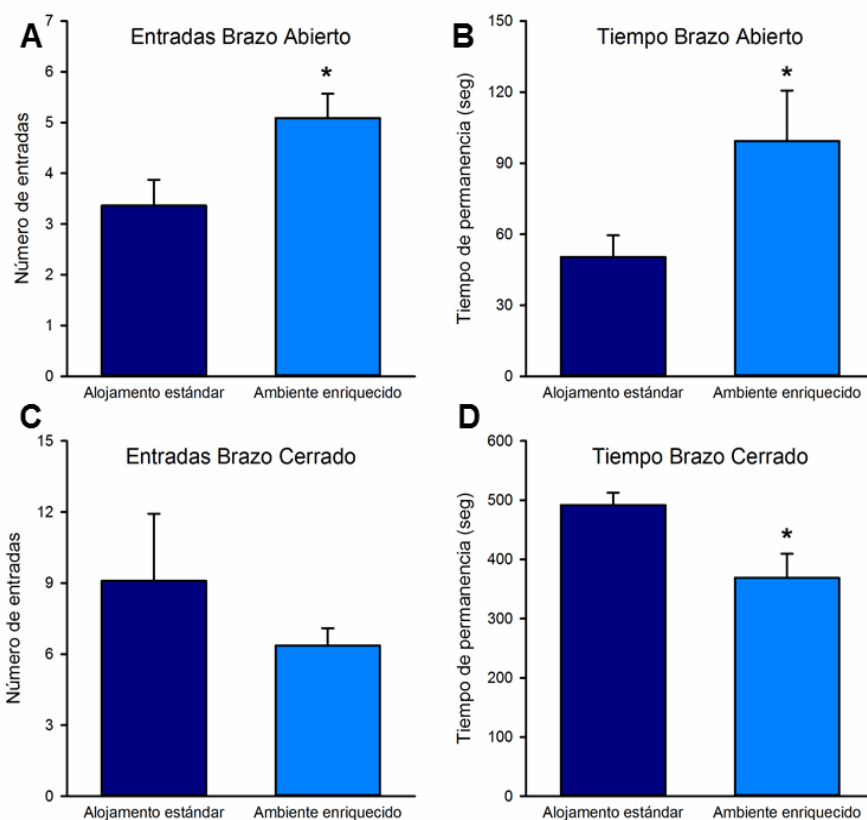


Figura 16. Efecto del enriquecimiento ambiental sobre el desempeño de los roedores en la prueba de laberinto elevado en cruz. Los animales alojados en un ambiente enriquecido mostraron mayor número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos (A y B) además de un menor tiempo de permanencia en brazos cerrados (D). Los resultados están expresados como media \pm EEM. Prueba t: * $p < 0.05$.

8.2. Prueba de enterramiento defensivo (ansiedad)

Los resultados de la prueba de enterramiento defensivo se muestran en la figura 17. La gráfica A incluye la conducta de todos los animales sometidos al

enriquecimiento ambiental, en este caso el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre ambos grupos de roedores en ninguno de los parámetros evaluados (tiempo de enterramiento, latencia de enterramiento y número de choques). El análisis de la dispersión de los datos de tiempo de enterramiento indicó que el grupo de enriquecimiento ambiental podría dividirse en animales resilientes y vulnerables: se consideró como resilientes (R) las ratas que tuvieron un tiempo de enterramiento alrededor de 50 segundos (rango 0 - 102), mientras que aquellos animales que mostraron un tiempo de enterramiento alrededor de 250 segundos (rango 188 - 352) se consideraron como vulnerables (V). El análisis estadístico de cada uno de estos grupos se mostró diferencias significativas, descritas a continuación. La prueba t indicó que los sujetos sometidos a enriquecimiento ambiental y considerados resilientes mostraron un menor tiempo de enterramiento (TE) que el grupo control (alojados en ambiente estándar) ($p < 0.01$, figura 17B), mientras que los sujetos considerados como vulnerables tuvieron tiempo de enterramiento significativamente mayor que los controles ($p < 0.05$, figura 17C).

Los resultados sugieren que, en la prueba de enterramiento defensivo, el enriquecimiento ambiental puede aumentar o reducir la conducta tipo ansiosa de las ratas macho jóvenes.

8.3. Prueba de nado forzado (depresión)

La figura 18 muestra el desempeño de los roedores en la prueba de nado forzado. El análisis estadístico mostró diferencias significativas en la conducta de inmovilidad ($p < 0.05$) y escalamiento ($p < 0.001$), donde los animales expuestos a un ambiente enriquecido muestran menos inmovilidad y más escalamiento, comparados con los sujetos control. Estos resultados sugieren que el enriquecimiento ambiental reduce la conducta tipo depresiva en ratas macho jóvenes.

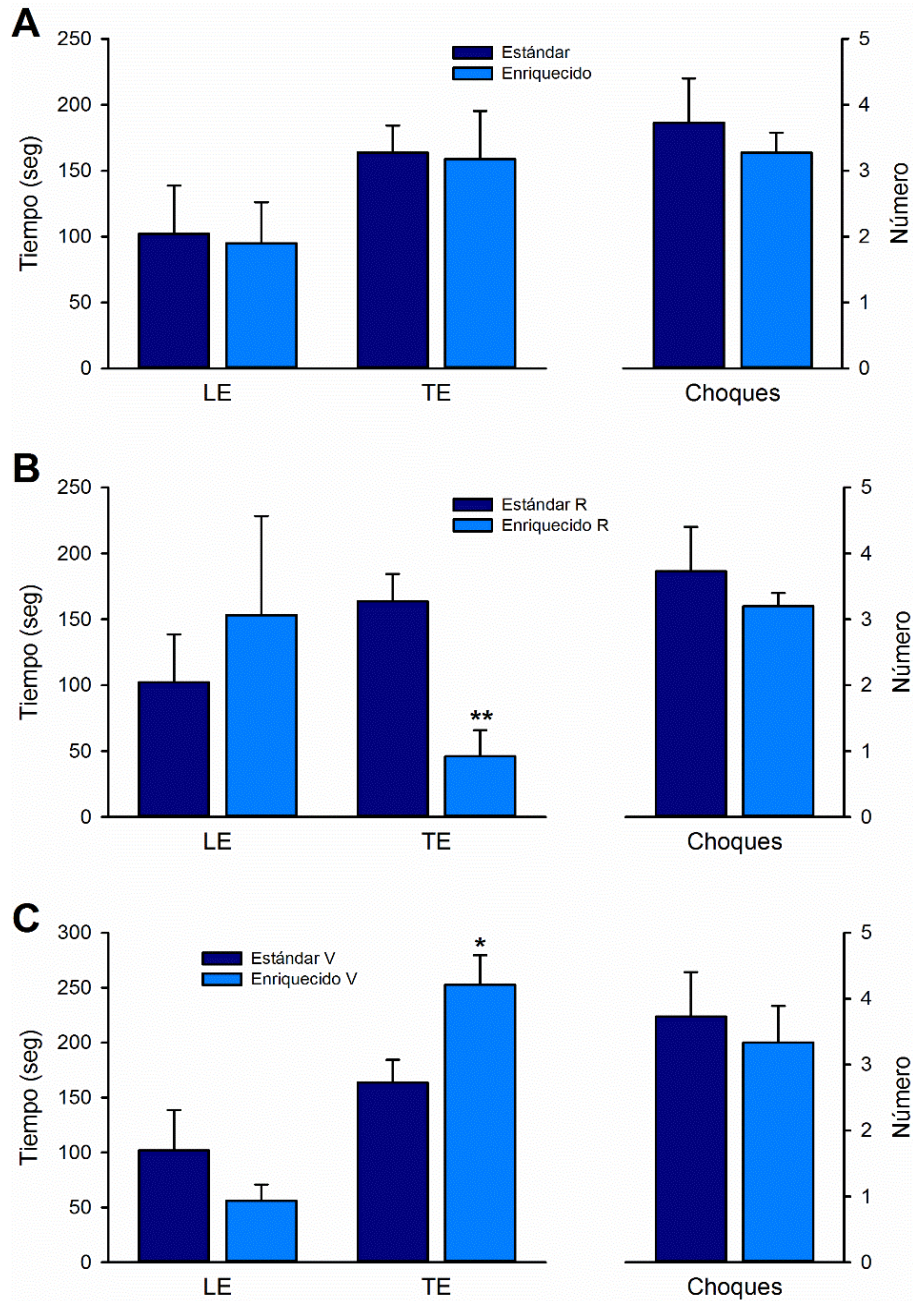


Figura 17. Efecto del enriquecimiento ambiental sobre el desempeño de los animales en la prueba de enterramiento defensivo. Los animales del grupo de enriquecimiento considerados resilientes (gráfica B) tuvieron un menor tiempo de enterramiento que los animales control, mientras que los animales considerados vulnerables (gráfica C) presentaron un mayor tiempo de enterramiento. Los datos están expresados como media \pm EEM. Prueba t: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

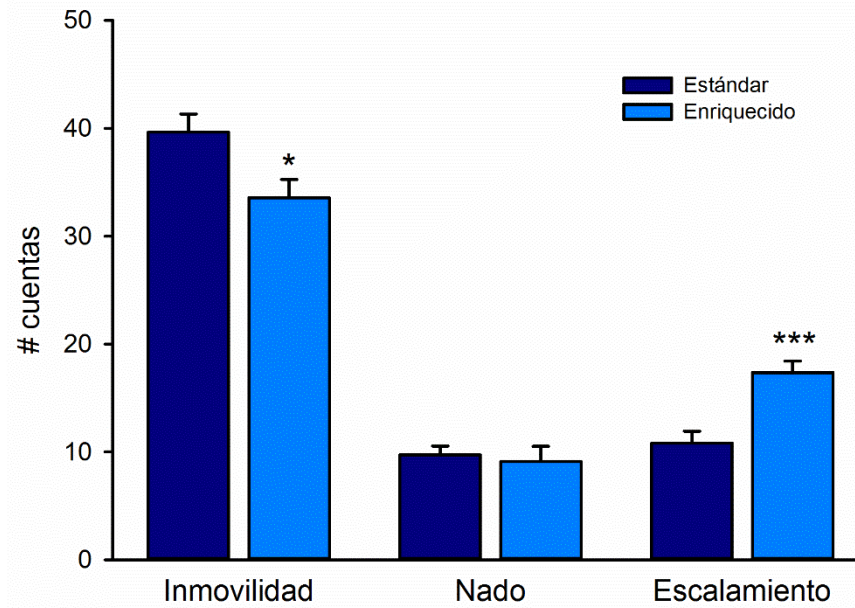


Figura 18. Efecto del enriquecimiento ambiental sobre la conducta de los roedores en la prueba de nado forzado. Los animales alojados en el ambiente enriquecido muestran menos conducta de inmovilidad y mayor escalamiento que el grupo alojado en condiciones estándar. Los datos están expresados como media \pm EEM. Prueba t: * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$.

9. DISCUSIÓN

En el presente estudio se implementó un modelo de enriquecimiento ambiental para determinar sus efectos sobre la respuesta ante estrés en ratas macho jóvenes. Dichos efectos se midieron a través de pruebas conductuales de ansiedad (laberinto elevado en cruz y enterramiento defensivo) y depresión (prueba de nado forzado). La prueba de laberinto elevado en cruz (LEC) mostró que, en comparación con los animales control, los animales alojados en ambiente enriquecido (AE) permanecieron más tiempo y entraron más veces en los brazos abiertos, mientras que el tiempo de permanencia en los brazos cerrados fue menor, este perfil conductual es consistente con una reducción de la conducta tipo ansiosa en estos animales. En la prueba de enterramiento defensivo (ED) se encontró que una proporción de animales alojados en AE presentó menor conducta de enterramiento que los animales control, mientras que la proporción restante tuvo mayor tiempo de enterramiento, estos resultados sugieren que el AE tiene efecto ansiolítico y ansiogénico, respectivamente, en las ratas macho jóvenes. Finalmente, en la prueba de nado forzado (PNF) se encontró que los animales alojados en AE presentaron menor conducta de inmovilidad que los sujetos control, al ser la inmovilidad una conducta que sugiere desesperanza, los resultados sugieren que el AE reduce la conducta tipo depresiva en los roedores. Estos resultados en conjunto sugieren que existe una disminución de la conducta tipo ansiosa y depresiva en los roedores de laboratorio alojados en AE.

El enriquecimiento ambiental reduce la conducta tipo ansiosa en la prueba de laberinto elevado en cruz

De acuerdo a lo esperado, los resultados de la prueba de LEC indicaron que el AE produjo un efecto ansiolítico en los sujetos experimentales. Estos resultados concuerdan con varios estudios donde una exposición al AE reduce la ansiedad en los roedores evaluada por la prueba de LEC (Hellemans, et al., 2005 y

Abramov, et al., 2008). En contraste, otros estudios mencionan que las ratas de AE realizaron significativamente más entradas en brazos cerrados que los grupos control (alojamiento estándar), lo que sugeriría un aumento de la ansiedad (Brenes, et al., 2009). Esta inconsistencia y variabilidad en el efecto ansiolítico del AE podría explicarse por varios factores metodológicos (como el tiempo de alojamiento en AE, cepa de la rata, tipos de objetos utilizados, edad de la rata, iluminación, etc.), por lo que se requieren más estudios controlados para reportar resultados más consistentes.

El enriquecimiento ambiental tiene efectos ansiolíticos y ansiogénicos en la prueba de enterramiento defensivo

Los resultados de la prueba de ED fueron interesantes debido a que se encontraron resultados contradictorios, por una parte, indicaron que, conforme a lo esperado, el AE funciona como ansiolítico en sujetos experimentales, sin embargo, esto ocurrió sólo para un porcentaje de roedores (resilientes) mientras que, para el porcentaje restante, este tipo de alojamiento fue ansiogénico (vulnerables).

Los resultados esperados (disminución de la conducta tipo ansiosa para la prueba de ED) del grupo de roedores considerado como resiliente concuerdan con diversos estudios (Leal-Galicia, et al., 2007), que demuestran que la exposición de 2 semanas en condiciones de AE reduce el enterramiento defensivo en roedores Wistar comparados con los roedores alojados en condiciones estándar.

Por otro lado, el grupo de roedores expuesto al AE que, contrario a lo esperado, resultó vulnerable al efecto ansiogénico de la prueba de ED, no se ve respaldado por otros estudios, sin embargo, esto puede explicarse por la existencia de diversos parámetros (tipo de individuo, metabolismo /estado fisiológico, etc.) que pueden influir en el comportamiento de los roedores en la prueba de ED.

Como lo destacan De Boer & Koolhaas (2003), la prueba de ED es sensible a una amplia gama de variables procedimentales y orgánicas, algunos animales casi no exhiben la conducta de enterramiento, sino que prefieren mantenerse alejados del electrodo permaneciendo en una postura congelada/inmóvil durante todo el período de observación, mientras que otros optan por una postura activa que consiste en enterrar el electrodo. Estas diferencias individuales en la prueba se observaron en estudios iniciales de Hudson (1950) y de Pinel y Treit (1978), y desde entonces se ha observado en casi todos los estudios sobre pruebas conductuales de ansiedad, específicamente de ED (De Boer & Koolhaas, 2003). Por lo tanto, el nivel individual de enterramiento defensivo en la prueba puede considerarse como una expresión de la tendencia de un individuo a usar un estilo de afrontamiento proactivo, mientras que el nivel de inmovilidad/postura congelada es una expresión de su comportamiento pasivo/reactivo. Comúnmente, la conducta de enterramiento es considerada una de los principales indicadores de ansiedad ya que es sensible a fármacos ansiolíticos efectivos en la clínica, sin embargo, algunas conductas pasivas también pueden ser indicadoras de algún trastorno de ansiedad, un ejemplo de ellas es el *freezing* o congelamiento que es una forma de escape que no ocupa físicamente el cuerpo para lidiar con la situación, esta conducta está asociada con ansiedad y puede estar relacionada etiológicamente con desórdenes de ansiedad severos (Riskind et al., 2016). Por lo tanto, el entendimiento de las bases biológicas que subyacen la respuesta conductual de los sujetos resilientes y vulnerables encontrados en el presente proyecto requiere de más estudios, y una la evaluación más minuciosa de la conducta de los animales en la prueba de ED (evaluación de las conductas tanto activas como pasivas).

El enriquecimiento ambiental reduce la conducta tipo depresiva en la prueba de nado forzado

La prueba de PNF se empleada en este proyecto fue la versión modificada, en comparación con lo propuesto originalmente por Porsolt, en esta versión se utiliza un nivel de agua más alto que motiva a los roedores a ejecutar conductas activas como nado y escalamiento (Detke & Lucki, 1996).

Utilizando esta prueba se encontró que el AE redujo la conducta tipo depresiva en las ratas macho jóvenes, lo que concuerda con varios estudios (Brenes, et al., 2008 y Brenes, et al., 2009), donde los animales alojados en condiciones de AE mostraron la conducta de desesperanza más baja, estos datos sugieren que el alojamiento mencionado ayudó a mejorar las habilidades de afrontamiento de los roedores y mostraron una estrategia más activa (tratar de escapar) comparado con un grupo control cuyo nivel de la conducta de inmovilidad fue mayor. Además de reducir la conducta de inmovilidad, el AE produjo un aumento significativo en la conducta de escalamiento, se ha descrito que un incremento de esta conducta se asocia con una activación del sistema noradrenérgico (Detke et al., 1995), lo que sugiere que este sistema de neurotransmisión está involucrado en el efecto protector del AE contra la desesperanza. Esto es consistente con varios estudios en los que se demuestra que el AE es capaz de modular los sistemas de neurotransmisión a nivel central (Detke & Lucki, 1996 y Detke, et al., 1995).

En conjunto, todos los resultados discutidos anteriormente sugieren que el AE mejora la respuesta de los roedores jóvenes ante una situación estresante y que esto se explica en parte por los efectos que dicho alojamiento tiene sobre la neurotransmisión en le SNC.

El enriquecimiento ambiental protege contra la depresión y ansiedad

Se sabe que un AE está constituido por distintos objetos que promueven las interacciones sociales, el aprendizaje, la memoria, y la estimulación sensorial y

motora (Petrosini, et al., 2010 y Simpson & Kelly, 2011). Por ello, el diseño del AE utilizado en este trabajo incluyó pelotas de plástico, cubos de madera, juguetes de plástico, plataformas, rampas de plástico o madera, rueda para correr, cajas de cartón, tiras de periódico y túneles de PVC con diferentes conformaciones (ver apartado **6.1**); considerando que esta conformación de AE sería adecuada para estimular plasticidad cerebral en los roedores e inducirles resistencia a desarrollar conductas tipo ansiosas y depresivas.

Otro parámetro importante a considerar para el AE fue el tiempo de alojamiento de los roedores en dichas condiciones, aunque la duración del AE difiere entre varios laboratorios (1 a 13 semanas), generalmente los programas de AE emplean una exposición de 1 a 4 semanas (Simpson & Kelly, 2011), considerando que de ser efectivo este AE se usaría en futuros experimentos para promover resiliencia al estrés a sujetos envejecidos (que se sabe tienen mecanismos de plasticidad reducidos), en este trabajo se consideró adecuado implementar un tiempo de 4 semanas de alojamiento en AE.

Aunque, como se destaca en estudios previos (Petrosini, et al., 2010; Simpson & Kelly, 2011; Mora, et al., 2007 y Toth, et al., 2011), las variables de un AE pueden diferir entre laboratorios (variables como el tiempo de alojamiento, la edad de las ratas e incluso el origen de vulnerabilidad o protección contra lesiones cerebrales), la mayoría de ellos sugieren que una interacción entre los mecanismos neurales y la exposición adecuada a un EA (promoviendo el bienestar animal) proporciona herramientas suficientes para proveer efectos positivos que recaen directamente en la función cognitiva y neuroquímica del cerebro, y de esta manera, que el cerebro se vuelva más resistente en caso de alguna lesión o patología neurodegenerativa, esta idea está de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, los cuales indicaron que una exposición al AE provee resiliencia a nivel cerebral en los roedores de laboratorio y los protege de patologías como la ansiedad y la depresión.

Efectos del AE sobre el eje HHA

El efecto que tiene el AE sobre el desarrollo de conductas tipo ansiosas y depresivas puede estar asociado a una regulación de esta manipulación experimental sobre la actividad de la respuesta de estrés. Si bien el eje HHA es una parte fundamental que regula esta respuesta, las evidencias de los efectos positivos del AE sobre la actividad de este eje son inconsistentes (Simpson & Kelly, 2011); sin embargo, existen estudios que apoyan esa idea. Al respecto, se ha descrito que el aumento de la concentración de adrenocorticotropina (ACTH) en respuesta a estrés por restricción de movimiento (maniobras físicas o mecánicas que limitan los movimientos de una parte o todo el cuerpo del roedor) se atenúa cuando los animales son expuestos a un AE, esto sugiere que los animales alojados en condiciones de enriquecimiento ambiental tienen una menor reactividad del eje HHA ante situaciones estresantes, comparados con animales control (Moncek, et al., 2004 y Schrijver, et al., 2002). Esto apoya la idea de que los animales enriquecidos son menos reactivos emocionalmente ante situaciones adversas, por lo que pueden lidiar con ellas de manera más eficiente (Simpson & Kelly, 2011). Se considera que esto se debe a una acción más eficiente de los glucocorticoides en estos animales, puede ser que en ellos el asa de retroalimentación negativa (necesaria para normalizar la actividad del eje HHA y proteger al organismo del daño inducido por concentraciones excesivas de glucocorticoides circulantes) sea más eficaz, este efecto puede estar asociado a una mayor expresión de receptores a glucocorticoides en el hipocampo y corteza prefrontal (dos estructuras que participan en dicha asa de retroalimentación negativa) cuya función es reducir la actividad del eje (Olsson, et al., 1994). En apoyo a esta idea, otros estudios encontraron que el AE normalizó anomalías conductuales y mejoró la retroalimentación negativa del eje HHA en ratas estresadas (Fan, et al., 2021).

Estos hallazgos sugieren que el AE podría mejorar las conductas asociadas al estrés y la reprogramación aberrante del eje HHA en las ratas jóvenes, lo que reduce el riesgo de desarrollar patologías psiquiátricas (Fan, et al., 2021).

10. CONCLUSIONES

En el presente trabajo el enriquecimiento ambiental redujo las conductas tipo ansiosas y depresivas en las ratas macho jóvenes; sin embargo, el AE generó una dualidad de resultados en la prueba de enterramiento defensivo, con efectos ansiolíticos y ansiogénicos, lo que sugiere la necesidad de realizar más estudios experimentales que concreten resultados más consistentes en la conducta de los roedores.

Dados los efectos positivos del AE sobre las conductas tipo ansiosas y depresivas asociadas al estrés en los roedores jóvenes, se considera que esta configuración y temporalidad de AE puede usarse para promover resiliencia en sujetos envejecidos.

Finalmente, es importante destacar que el aumento en la resiliencia en los roedores promovida por su exposición a un ambiente enriquecido puede extrapolarse hacia los humanos, en ellos se incorporaría a su vida diaria la ejecución de actividades físicas (ejercicio, correr, caminatas, etc.), sociales (relaciones interpersonales, salidas, conciertos, música, etc.), educativas (estudiar, leer, aprender un nuevo idioma, etc.) y lúdicas (arte, aprender un instrumento, juegos recreativos, pasear mascotas, etc.) que promuevan plasticidad cerebral y mejoren su función cognitiva, además de incrementar su resiliencia ante diversos estresores presentes en la vida diaria e incluso protegerlos contra trastornos neurodegenerativos.

12. REFERENCIAS

1. Abramov, U., Puusaar, T., Raud, S., Kurrikoff, K., & Vasar, E. (2008). Behavioural differences between C57BL/6 and 129S6/SvEv strains are reinforced by environmental enrichment. *Neuroscience letters*, *443*(3), 223–227.
2. Bogdanova, O. V., Kanekar, S., D'Anci, K. E., & Renshaw, P. F. (2013). Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiology & behavior*, *118*, 227–239.
3. Brenes, J. C., Padilla, M., & Fornaguera, J. (2009). A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. *Behavioural brain research*, *197*(1), 125–137.
4. Brenes, J. C., Rodríguez, O., & Fornaguera, J. (2008). Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *89*(1), 85–93.
5. Calle-Sandoval, D. A., García-Fajardo, A. L., Vanegas-Yela, A. G., Ocampo, Á. A. (2020). Contexto enriquecimiento ambiental y procesos cognitivos. En: Ocampo ÁA. (Ed.), *Neurociencia, mente e innovación. Una aproximación desde el desarrollo, el aprendizaje y la cognición creativa*. (pp. 309-328). Cali, Colombia: Editorial Universidad Santiago de Cali.
6. Carvajal A, C. (2005). Estrés y depresión: una mirada desde la clínica a la neurobiología. [*Rev. Med. Clin. Condes - 2005; 16(4) 210 - 9*].
7. Celis, C. A., Martínez, D. P., Conde, C. A. (2010). La primera entrada en el laberinto en cruz elevado como predictor del nivel de ansiedad. *Primera entrada como predictor de la ansiedad. Revista de la Universidad Industrial de Santander*. (Vol. 42, pp. 220-228).

8. CogniFit. (2015). Plasticidad Cerebral y Cognición. Plataforma de investigación Cognifit.
<https://www.cognifit.com/mx/plasticidad-cerebral>
9. De Boer, S. F., Koolhaas, J. M. (2003). Defensive burying in rodents: ethology, neurobiology and psychopharmacology. *European Journal of Pharmacology* 463 (2003) 145 – 161.
10. Detke, M. J., & Lucki, I. (1996). Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behavioural brain research*, 73(1-2), 43–46.
11. Detke, M. J., Rickels, M., & Lucki, I. (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 121(1), 66–72.
12. Doddoli C. (2022). La plasticidad cerebral nos permite cambiar y aprender a lo largo de la vida. *Ciencia UNAM-DGDC*.
<https://ciencia.unam.mx/leer/1278/la-plasticidad-cerebral-nos-permite-cambiar-y-aprender-a-lo-largo-de-la-vida>
13. Fan, Z., Chen, J., Li, L., Wang, H., Gong, X., Xu, H., Wu, L., & Yan, C. (2021). Environmental enrichment modulates HPA axis reprogramming in adult male rats exposed to early adolescent stress. *Neuroscience research*, 172, 63–72.
14. Fuchs, E., Flügge, G. (2006). Experimental animal models for the simulation of depression and anxiety. *Dialogues in clinical neuroscience*, 8(3), 323–333.
15. Garcés-Vieira, M. V., Suárez-Escudero, J. C. (2014). Neuroplasticidad: aspectos bioquímicos y neurofisiológicos. *CES Medicina*, 28 (1), 119-132.
16. García-Ríos, R. I. (2013). Evaluación del efecto de líquido amniótico humano y sus ácidos grasos en ratas sometidas a modelos experimentales de ansiedad. (Tesis doctoral, Universidad Veracruzana). Laboratorio de

Neurofarmacología del Instituto de Neuro-etología de la Universidad Veracruzana.

17. Goldberg, D., Kendler, K., Sirovatka, P. J., Regier, D. A. (2010). La biología del trastorno de ansiedad generalizada y el trastorno depresivo mayor. *DSM-V Depresión y Trastorno de ansiedad generalizada*. (p. 45). Medica Panamericana.
18. Gómez-Restrepo, C., Hernández-Bayona, Rojas-Urrego, Santacruz-Oleas, Uribe- Restrepo. (2008). Entrenamiento de relajación. En Á. Garrido Madrid (Ed.), *Psiquiatría clínica. Diagnóstico y tratamiento en niños, adolescentes y adultos*. (3a ed., p. 644). Medica panamericana.
19. Hellemans, K. G., Nobrega, J. N., Olmstead, M. C. (2005). Early environmental experience alters baseline and ethanol-induced cognitive impulsivity: relationship to forebrain 5-HT_{1A} receptor binding. *Behavioural brain research*, 159(2), 207–220.
20. Herrera-Pérez, J. J., Martínez-Mota, L., & Fernández-Guasti, A. (2008). Aging increases the susceptibility to develop anhedonia in male rats. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 32(8), 1798–1803.
21. Leal-Galicia, P., Saldívar-González, A., Morimoto, S., & Arias, C. (2007). Exposure to environmental enrichment elicits differential hippocampal cell proliferation: role of individual responsiveness to anxiety. *Developmental neurobiology*, 67(4), 395–405.
22. López-Ibor, J. J., Valdés-Miyar, M. (2005). Trastornos del estado de ánimo, Trastornos de ansiedad. *DSM-IV-TR. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. (1a ed., pp. 391, 518-529). Masson.
23. Moncek, F., Duncko, R., Johansson, B. B., & Jezova, D. (2004). Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. *Journal of neuroendocrinology*, 16(5), 423–431.

24. Montes-Rodríguez, C. J., Urteaga-Urías E. (2018). Plasticidad sináptica como sustrato de la resiliencia. *Rev. Neurol.* 2018; 67: 453-60.
25. Mora, F., Segovia, G., & del Arco, A. (2007). Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain research reviews*, 55(1), 78–88.
26. National Institutes of Health (1985) Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NIH Publication Number 85-23, US Department of Health, Education and Welfare, Bethesda, MD.
27. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
28. Olsson, T., Mohammed, A. H., Donaldson, L. F., Henriksson, B. G., & Seckl, J. R. (1994). Glucocorticoid receptor and NGFI-A gene expression are induced in the hippocampus after environmental enrichment in adult rats. *Brain research. Molecular brain research*, 23(4), 349–353.
29. Ortega-Loubon, C., Franco, J. C. (2010). Neurofisiología del aprendizaje y la memoria. Plasticidad Neuronal. *iMedPub Journals*, Vol. 6
30. Pascual-Castroviejo, I. (1996). Plasticidad cerebral. [*REV NEUROL (Barc)* 1996; 24: 1361-1366].
31. Pérez-De la Plata, E., Fernández-Espinosa, A. M. (2013). Estrés y ansiedad. *Auxiliar de enfermería*. (7^a ed., p. 53). Mc Graw Hill Education.
32. Petrosini, L., De Bartolo, P., Foti, F., Gelfo, F., Cutuli, D., Leggio, M. G., & Mandolesi, L. (2010). On whether the environmental enrichment may provide cognitive and brain reserves. *Brain research reviews*, 61(2), 221–239.
33. Rejón-Orantes, J. D. C., Placer-Perdomo, D., Roldán, G. (2011). Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas. (Vol. 52, pp. 78-89).

34. Riskind, J. H., Sagliano, L., Trojano, L., & Conson, M. (2016). Dysfunctional Freezing Responses to Approaching Stimuli in Persons with a Looming Cognitive Style for Physical Threats. *Frontiers in psychology*, 7, 521.
35. Rodríguez-Landa, J. F., Bernal-Morales, B., Gutiérrez-García, A. G. (2012). Estrés, miedo, ansiedad y depresión. En G. A. Coria Ávila (Ed.), *Neurofisiología de la conducta*. (1ª ed., p. 138). Dirección General Editorial.
36. Rojas, M. P. (2020). Plasticidad cerebral: ¿Cómo nuestro cerebro se modifica?
<https://neuro-class.com/plasticidad-cerebral-como-nuestro-cerebro-se-modifica/>
37. Schrijver, N. C., Bahr, N. I., Weiss, I. C., & Würbel, H. (2002). Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 73(1), 209–224.
38. Sierra-Benítez, E. M., León-Pérez, M. Q. (2019). Plasticidad cerebral, una realidad neuronal. *Rev. Ciencias Médicas*. 2019; 23(4): 599-609.
39. Simpson, J., Kelly, J. P. (2011). The impact of environmental enrichment in laboratory rats--behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural brain research*, 222(1), 246–264.
40. Stein, D. J., Hollander, E. (2002). Clasificación de los trastornos de ansiedad, Circuitos neurales del miedo y la ansiedad, Conceptos cognitivos de la ansiedad. *Tratado de los trastornos de ansiedad*. (pp. 15, 51, 86).
41. Toth, L. A., Kregel, K., Leon, L., Musch, T. I. (2011). Environmental Enrichment of Laboratory Rodents: The Answer Depends on the Question. *Comparative medicine*, 61(4), 314–321.
42. Trucco, M. (2002). Estrés y trastornos mentales: aspectos neurobiológicos y psicosociales. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, v. 40 (Supl. 2).
43. Vélez A, H., Rojas M, W., Borrero R, J., Restrepo M, J. (2010). Trastornos depresivos, Estrés y estrés postraumático, Trastorno de ansiedad

generalizada. En R. J. Toro Greiffenstein, L. E. Yepes Roldán, C. A. Palacio Acosta, J. E. Téllez Vargas (Eds.), *Fundamentos de Medicina. Psiquiatría* (5a ed., pp. 177, 250-265, 241-242). Corporación para Investigaciones Biológicas.

44. Willner, P., Muscat, R., I., Papp, M. (1992). Chronic Mild Stress-Induced Anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 16(4), 525–534.