



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA

EFFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE LA CORTICOSTERONA
SOBRE LA INMOVILIDAD DE LA RATA Y LA PRODUCCIÓN DE
RADICALES LIBRES EN CEREBRO, HÍGADO Y MÚSCULO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN INVESTIGACION
EN MEDICINA

PRESENTA

VICENTE SANDOVAL HERRERA



DIRECTORES DE TESIS:

DR. JOSÉ G. TRUJILLO FERRARA

DR. SERGIO R. ZAMUDIO HERNÁNDEZ

JULIO DE 2011

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA “MAURICIO RUSSEK BERMAN” DE LA ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y EL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA DE LA ESCUELA NACIONAL DE MEDICINA DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. JOSÉ GUADALUPE TRUJILLO FERRARA Y EL DR. SERGIO ROBERTO ZAMUDIO HERNÁNDEZ.

EL DESARROLLO DEL PRESENTE TRABAJO FUE APOYADO POR EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT) (BECA 215346) Y EL APOYO DEL COMITÉ TÉCNICO DE PRESTACIONES A BECARIOS NACIONALES E INTERNACIONALES (COTEPABE) DICTAMEN: SeAca/COTEPABE/161/08. ASÍ COMO DE LOS PROYECTOS SIP-IPN, 20090445 Y 20090190.

AGRADECIMIENTOS

AL DR. JOSÉ GUADALUPE TRUJILLO FERRARA Y AL DR. SERGIO ROBERTO ZAMUDIO HERNÁNDEZ POR EL CONSTANTE APOYO EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

A LOS SINODALES:

DR. RAFAEL CAMPOS RODRÍGUEZ
DR. JOSÉ CORREA BASURTO
DR. ENRIQUE QUEREJETA VILLAGÓMEZ
DR. ABRAHAM MIRANDA PÁEZ

POR SUS OBSERVACIONES Y CORRECCIONES A LA ESCRITURA DE ESTA TESIS.

A LA DRA. LUCÍA QUEVEDO, A LA DRA. NORMA PANIAGUA, DEL DEPARTAMENTO DEL FISIOLÓGIA DE LA ENCB, AL DR. DANIEL RAMÍREZ ROSALES Y AL M. en C. FRANCISCO J. MÉNDEZ CHÁVEZ, DEL LABORATORIO DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA DEL DEPARTAMENTO DE FÍSICA AVANZADA DE LA ESCUELA SUPERIOR DE FÍSICA Y MATEMÁTICAS, POR EL APOYO EN LA REALIZACIÓN DE ALGUNOS EXPERIMENTOS DE ESTE TRABAJO.

LOS RESULTADOS GENERADOS DE ESTA TESIS FUERON PRESENTADOS PARCIALMENTE EN LOS SIGUIENTES CONGRESOS DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS:

EFFECTO DE LA CORTICOSTERONA INTRAPONTINA SOBRE LA RESPUESTA DE INMOVILIDAD Y LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE LA RATA. DEL 6.-11 DE SEPTIEMBRE DE 2008 MÉRIDA, YUCATÁN.

EFFECTO DEL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES INTRACELULARES DE LA CORTICOSTERONA EN EL NÚCLEO PONTINO ORAL SOBRE LA RESPUESTA DE INMOVILIDAD Y ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE LA RATA. SEPTIEMBRE DE 2009. MORELIA MICHOACAN.

FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES POR LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE CORTICOSTERONA. SEPTIEMBRE 26-30 DE 2010. VILLAHERMOSA, TABASCO.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México D.F. siendo las 12:00 horas del día 15 del mes de junio del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de ESM para examinar la tesis de titulada:

“EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE LA CORTICOSTERONA SOBRE INMOVILIDAD DE LA RATA Y LA PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES EN CEREBRO, HÍGADO Y MÚSCULO”

Presentada por el alumno:

SANDOVAL
Apellido paterno

HERRERA
Apellido materno

VICENTE
Nombre(s)

Con registro:

B	0	7	1	5	2	7
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN MEDICINA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director de tesis

Dr. José Guadalupe Trujillo Ferrara

Director de tesis

Dr. Sergio Roberto Zamudio Hernández

Dr. Rafael Campos Rodríguez

Dr. José Correa Basurto

Dr. Enrique Querejeta Villagomez

Dr. Abraham Miranda Páez

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dr. Eleazar Lara Padilla

ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
I.P.N.
SECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION
CONTROL ESCOLAR

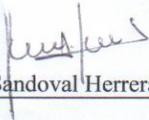


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 29 del mes junio del año 2011, el que suscribe Vicente Sandoval Herrera alumno del Programa de Doctorado en Investigación en Medicina con número de registro B071527, adscrito a la Escuela Superior de Medicina, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. José Guadalupe Trujillo Ferrara, Dr. Sergio Roberto Zamudio Hernández y cede los derechos del trabajo intitulado “EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE LA CORTICOSTERONA SOBRE INMOVILIDAD DE LA RATA Y LA PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES EN CEREBRO, HÍGADO Y MÚSCULO” al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección vsandher@ipn.mx Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Vicente Sandoval Herrera

Nombre y firma

ÍNDICE

Índice de figuras.....	I
Índice de tablas.....	II
Lista de abreviaturas.....	III
Resumen.....	IV
Abstract.....	VI
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
II.- ANTECEDENTES	
2.1.- Estado de alerta y sueño.....	4
2.2.- Estado de alerta y estrés.....	6
2.3.- Glucocorticoides y estrés oxidativo.....	8
2.4.- Glucocorticoides y conducta.....	9
2.5.- Glucocorticoides y RI.....	11
2.6.- Control Neural del RI.....	13
2.7.- Núcleo pontino oralis.....	16
2.8.- Núcleos de rafe	17
2.9.- Planteamiento del problema.....	18
III.- OBJETIVOS	
3.1.- Objetivo general.....	22
3.2.- Objetivos específicos.....	22
IV.- MATERIALES Y MÉTODOS	
4.1.- Experimento I	
4.1.1- Animales	23

4.1.2- Procedimiento quirúrgico.....	23
4.1.3- Microinyección.....	24
4.1.4- Procedimiento histológico.....	25
4.1.5- Respuesta de inmovilidad (RI).....	25
4.1.6- Actividad en Campo abierto.....	26
4.1.7- CORT en PnO,mla,PMR (experimento 1.1).....	27
4.1.8- Antagonistas a MR y GR en el PnO (experimento 1.2).....	27
4.1.9- Análisis estadístico.....	28
4.2 Experimento II	
4.2.1- Animales	29
4.2.3- Parámetros físicos.....	31
4.2.3.1- Peso corporal de la rata.....	31
4.2.3.3- Consumo de alimento.....	31
4.2.4- Hematocrito.....	32
4.2.5- Hemoglobina.....	31
4.2.6- Glucosa.....	32
4.2.7- Peroxidación de lípidos.....	32
4.2.8- Antioxidantes totales de la sangre (TAS).....	33
4.2.9- Superóxido dismutasa (SOD).....	33
4.2.10- Cuantificación de proteínas.....	34
4.2.11- Resonancia paramagnética electrónica (EPR).....	35
4.2.12- Actividad en campo abierto.....	36
4.2.13- Laberinto elevado.....	36

4.2.14- Nado forzado.....	36
4.2.15- Análisis estadístico.....	37

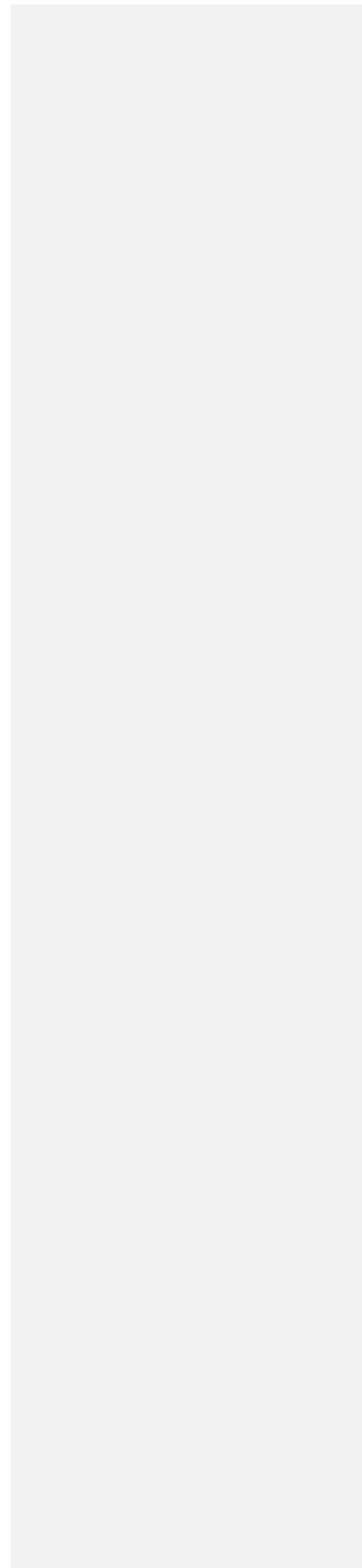
V. RESULTADOS

5.1.- Experimento I	
5.1.1- Histología.....	39
5.1.2- CORT en PnO, MLA y PMR.....	40
5.1.3- Antagonistas a MR y GR en PnO.....	46
5.2.- Experimento II	
5.2.1- Peso corporal.....	50
5.2.2- Consumo de alimento.....	51
5.2.4- Hematocrito, hemoglobina.....	52
5.2.5- Glucosa.....	53
5.2.6- Peso de órganos.....	53
5.2.7- Sistema oxidante y antioxidante.....	54
5.2.8- Resonancia paramagnética electrónica (RPE).....	56
5.2.9- Respuesta de inmovilidad de la rata el día 12.....	59
5.2.10- Actividad locomotora el día 12.....	60
5.2.11- Prueba de ansiedad en el laberinto elevado.....	61
5.2.12- Prueba de Nado forzado.....	62

VI.- DISCUSIÓN

Experimento I.....	63
Experimento II.....	69
Discusión general.....	79

VII.- CONCLUSIÓN.....	84
VIII.- REFERENCIAS.....	85

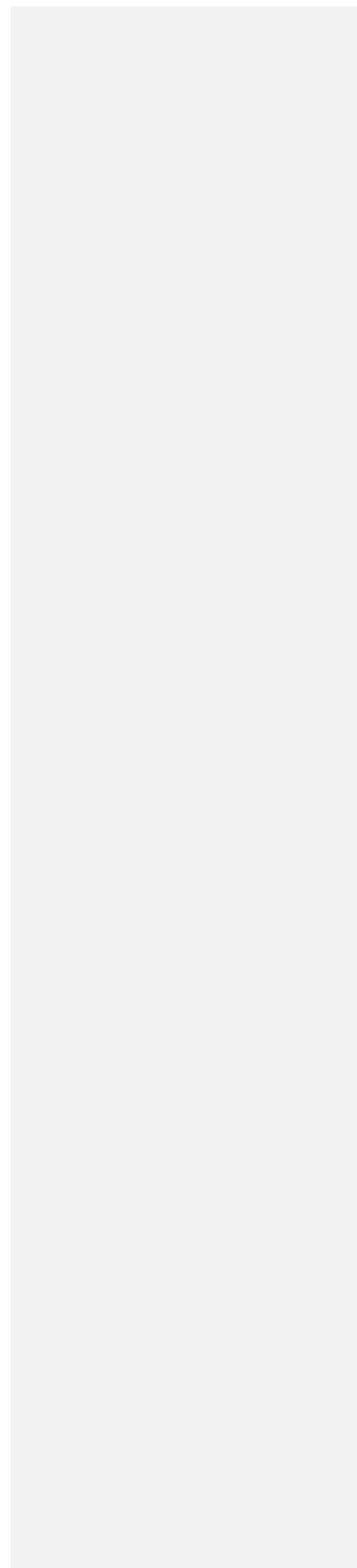


ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1 Viás nerviosas responsables del reflejo de inmovilidad (RI), según Klemm (1976).
- Figura 2. Diagrama del experimento II. Administración repetida de corticosterona (CORT) por 12 días.
- Figura 3 Esquema de cortes coronales del cerebro de la rata.
- Figura 4 Respuesta de inmovilidad de la rata.
- Figura 5 Efecto de la microinyección de la CORT y VEH sobre distancia recorrida (DT).
- Figura 6 Efecto de la microinyección de la CORT y VEH sobre el promedio de tiempo de ambulación (TA), en las siguientes áreas del puente: a) PnO b) mla c)PMR.
- Figura 7 Efecto de la microinyección de la CORT y VEH sobre el promedio de tiempo de movimiento no ambulatorio (TNA).
- Figura 8 Efecto de la COR sobre el promedio de tiempo de reposo después de inyectarla en la siguientes áreas del cerebro.
- Figura 9 Efecto del bloqueo de receptores para CORT en PnO sobre el promedio de la respuesta de inmovilidad.
- Figura 10 Efecto del bloqueo de receptores para CORT en el PnO sobre el promedio de: a) Distancia recorrida y b) Tiempo de ambulación. Los valores son el promedio.
- Figura 11 Efecto del bloqueo de receptores para CORT en el PnO sobre el promedio de: a) Tiempo de movimientos no ambulatorios b) Tiempo de reposo.
- Figura 12 Efecto de la administración repetida de CORT sobre el promedio de peso corporal de las ratas.
- Figura 13 Efecto de la administración repetida de CORT sobre el promedio de consumo de alimento de las ratas.
- Figura 14 Efecto de la administración repetida de CORT sobre el promedio de: a) Antioxidantes totales (TAS) medidos en la sangre b) Actividad de la SOD en eritrocitos.
- Figura 15 Efecto de la administración repetida de CORT sobre el promedio de la formación de MDA medido en muestras de sangre.
- Figura 16 Espectro de EPR de hígado y cerebro a temperatura ambiente, en banda X.
- Figura 17 Efecto de la administración repetida de CORT sobre el promedio de la formación de RL en muestras de hígado y cerebro.
- Figura 18 Respuesta de inmovilidad por pinzamiento del cuello en ratas tratadas con CORT por 12 días.
- Figura 19 Actividad locomotora a) distancia recorrida DT b) tiempo de ambulación TA c) tiempo de movimientos no ambulatorias TNA d) tiempo de reposo
- Figura 20 Índice de permanencia y número de entradas en el brazo abierto de laberinto elevado y la prueba duro 5 minutos.

Con formato: Sangría: Izquierda: 0 cm, Sangría francesa: 2.49 cm

Figura 21 Nado forzado: a) inmovilidad b) nado c) escalamiento; de ratas administradas con VEH o CORT por 12 días.



ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1 Concentración de glucosa, hemoglobina, y hematocrito de la rata antes del inicio del tratamiento y a los 12 días.
- Tabla 2 Porcentaje de peso de hígado, cerebro, músculo, bazo, corazón y glándulas adrenales a los 12 días de tratamiento con CORT.
- Tabla 3 TBARS en hígado, cerebro, músculo y sangre. En sangre se midió además TBARS, TAS y SOD en ratas al día 12 de tratamiento con CORT
- Tabla 4 Número relativo de RL mediante EPR, en hígado, cerebro y músculo de ratas a los 12 días de estimulación con CORT.

LISTA DE ABREVIATURAS

CAT	Catalasa
CORT	Corticosterona
CRH	Hormonal liberadora de corticotropina
DT	Distancia de ambulaci3n
ESPIRO	Espironolactona
GR	Receptor a glucocorticoides
GRs	Receptores a glucocorticoides
HPA	Hipot3lamo-hip3fisis-gl3ndulas adrenales
i.p	intra peritoneal
IPC	Inmovilidad por pinzamiento del cuello
LC	Locus coeruleus
MDA	Malondialdeh3do
MIFEP	Mifepristona
mla	Lemnisco medial
MR	Receptor a mineralocorticoides
PMR	Rafe paramedial
PnO	N3cleo pontino oral
PVN	N3cleo paraventricular
RI	Respuesta de inmovilidad
RL	Radicales libres
ROS	Especies Reactivas de Ox3geno
RPE	Resonancia paramagn3tica electr3nica
SOD	Super3xido dismutasa
TA	Tiempo de actividad no ambulaci3n
TAS	Antioxidantes totales
TBARS	3cido tiobarbit3rico
TNA	Actividad no ambulatoria
TR	Tiempo de reposo
VEH	Veh3culo

RESUMEN

La respuesta de inmovilidad (RI) también se conoce como "inmovilidad tónica", "reflejo de inmovilidad", "hipnosis animal", etc se considera un comportamiento antidepredatoria innato caracterizado por la ausencia de movimiento, mayor o menor grado de actividad muscular y una falta de respuesta en relación con los estímulos externos. Parte del mecanismo(s) neural (es) de RI involucra la formación reticular bulbo-pontina, con influencias de otros componentes del cerebro, en particular el sistema límbico. Se ha observado que la RI es más prolongada en animales estresados, y la inyección sistémica de corticosterona (CORT) también potencia este comportamiento. En la actualidad, las regiones anatómicas del cerebro implicadas en la modulación de RI son desconocidas. Por lo tanto, el presente estudio se realizó para determinar si algunas áreas pontinas podrían ser blanco de la CORT para la modulación del RI. Debido a que la CORT tiene afinidad a receptores a mineralocorticoides y glucocorticoides (MR) (GR) y debido a que la expresión de estos receptores se han observado que se modifica por niveles crónicos elevados de CORT. Fue el propósito, también, de este trabajo valorar algunas de las alteraciones conductuales asociadas a la desregulación del eje HPA (ansiedad, depresión, actividad locomotora), así como las alteraciones asociadas al efecto de la CORT (peso, formación de radicales libres etc.). Se utilizaron ratas Wistar macho de 250-300 g, las cuales se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio. Se realizó cirugía estereotáxica y se colocaron cánulas sobre el núcleo pontino oral (NPO), lemnisco medial (mla) y rafe paramedial (PMR) y se inyectó 1 μ L de corticosterona 21-acetato (CORT) 0.05 μ g/ μ L, espironolactona (ESPIRO) (0.5 μ g/1.0 μ L) y mifepristona (MIFEP) (0.5 μ g/1.0 μ L) que se disolvieron en vehículo (VEH: 45% hidroxipropil- β -ciclodextrina 0.1 en buffer de fosfatos a pH 7.4). Las drogas se administraron vía una cánula de silastic conectada a una jeringa de hamilton de 1 μ L. Después de la administración se midió a los 3, 7, 15, 30, 60 y 120 minutos la duración de la respuesta de inmovilidad (RI) y la conducta locomotora utilizando el Videomex-V. A otro grupo de ratas se les administró CORT (5 mg / kg ip.) o VEH por 12 días. Al final del tratamiento se midió RI, actividad locomotora, peso corporal y de órganos, consumo de alimento, consumo de agua, glucosa sanguínea, actividad enzimática de la superoxidodismutasa de muestras de sangre (SOD), antioxidantes totales de muestras de sangre (TAS). Formación de especies reactivas el ácido tiobarbitúrico (TBARS) de muestras de sangre, músculo e hígado y formación de radicales libre (RL) en cerebro e hígado, por el método de resonancia paramagnética electrónica (RPE), además de la respuesta en la prueba de nado forzado y laberinto elevado en cruz. La microinyección unilateral en el núcleo Pontis oralis (PnO) de 1.0 μ L de CORT (0.05 μ g/1.0 μ L) en ratas resultó en claras respuestas de comportamiento. Los animales muestran un aumento de la duración de la RI inducida por el pinzamiento del cuello y se observó también un incremento de la actividad locomotora en el campo abierto, que fue impedido por los tratamientos preventivos en PnO con 1.0 μ L de la espironolactona, (antagonista de los receptores a

mineralocorticoides (0.5 μg / μL) o 1.0 μL de la mifepristona antagonista del receptor de glucocorticoides (0.5 μg / 1.0 μL). Por el contrario, estas respuestas de comportamiento no se observaron cuando la CORT (0.05 μg / 1.0 μL) fue microinyectada en la zona del lemnisco medial (mla) o el rafe paramedial (PMR). Nuestros datos apoyan la idea de que, en situaciones de estrés, los glucocorticoides liberados de las glándulas suprarrenales llegan al PnO para producir un estado de hiper excitación que a su vez prolonga la duración de RI. Por otra parte, hubo una disminución significativa en el día 12 en el peso corporal y peso de las glándulas suprarrenales. No se encontraron diferencias significativas en la glucosa sanguínea, no se encontró tampoco en TBARS en el músculo, hígado y cerebro. Los niveles de SOD aumentaron significativamente en ratas CORT respecto a VEH y TAS fue menor en CORT respecto a VEH. La medición de RL por RPE muestra diferencia significativa en cerebro en ratas administradas con CORT respecto a VEH. Las pruebas de comportamiento indican una disminución en la actividad locomotora después de la administración repetida de CORT, en la prueba de laberinto elevado en cruz y nado forzado se evidencio respectivamente: una reducción del tiempo en los brazos abiertos y un mayor tiempo de reposo durante la prueba de nado forzado con disminución en el tiempo de nado. La estimulación continua de los receptores a glucocorticoides con la administración repetida de CORT, provocó una disfunción del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y probablemente de la disponibilidad de los receptores, por una posible reducción a la baja a MR y GR, lo que disminuyó la RI y la actividad locomotora. Además nuestros resultados apoyan la posibilidad de que la alteración en el eje HPA sea una de las causas del incremento de la ansiedad y la depresión,

ABSTRACT

The immobility response (IR) is also known as "tonic immobility," "behavioural arrest," "animal hypnosis", etc is considered an innate antipredatory behavior characterized by the absence of movement, greater or lesser degree of muscular activity and lack of response in relation to external stimuli. Experimentally, the IR is commonly produced manually forcing an animal in an supine position and held that position until the animal is immobilized. Part of the mechanism (s) neural (s) IR involves the bulbo-pontine reticular formation, with influences from other parts of the brain, particularly the limbic system. It has been observed that the IR is longer in stressed animals, and systemic injection of corticosterone (CORT) also promotes this behavior. At present, the anatomical regions of the brain involved in the modulation of IR are unknown. Therefore, the present study was undertaken to determine if some pontine areas could be targeted for the modulation of the IR. Because CORT has affinity to mineralocorticoid and glucocorticoid receptors (MR) (GR) and because the expression of these receptors have been shown to be modified by chronic high CORT levels. It was the purpose, too, of this work to assess some of the behavioral disorders associated with HPA axis dysregulation (anxiety, depression, locomotor activity) and alterations associated with the effect of CORT (weight, free radical formation.) It used male Wistar rats 250-300 g, which were kept in standard animal care conditions. Stereotactic surgery was performed and cannulas were placed on the oral pontine nucleus (PnO). Medial lemniscus (mla) and paramedian raphe (PMR) and injected 1 μ L corticosterone 21-acetate (CORT) 0.05 mg / 1.0 mL. Spironolactone (SPIRO) (0.5 μ g/1.0 mL) and mifepristone (MIFEP) (0.5 μ g/1.0 mL) were dissolved in vehicle (VEH: 45% hydroxypropyl- β -cyclodextrin 0.1 in phosphate buffer at pH 7.4). The drugs were administered via a silastic tube connected to a Hamilton syringe of 1 μ L. After administration was measured at 3, 7, 15, 30, 60 and 120 minutes the response duration of immobility and locomotor behavior using the Videomex-V. Another group of rats were given 1 ml / kg ip CORT (5 mg / kg ip.) or VEH for 12 days. At the end of treatment was measured IR, locomotor activity, body and organ weight, food intake, water consumption, blood glucose, enzymatic activity of samples of blood superoxide dismutase (SOD), total antioxidant blood samples (TAS), formation of thiobarbituric acid reactive species (TBARS) of blood, muscle and liver free radical formation (RL), by the method of electron paramagnetic resonance (EPR), in addition to plus maze test and forced swimming test. The unilateral microinjection into the nucleus pontis oralis (PnO) of 1.0 μ L of CORT (0.05 μ g/1.0 mL) in rats resulted in clear behavioral responses. Animals show an increase in the duration of the IR-induced by calmping the neck (in this type of induction, there is also turning and restricted body), and there was also an increase in locomotor activity in the open field, which was prevented by treatments in PnO with 1.0 mL of spironolactone, an antagonist of mineralocorticoid receptors (0.5 mg / mL) or 1.0 mL of mifepristone glucocorticoid receptor antagonist (0.5 mg / mL). By contrast, these behavioral responses were not observed when the CORT (0.05 μ g / 1.0 mL) was microinjected into the medial lemniscus area (mla) or the paramedian raphe (PMR). Moreover, a significant decrease on day 12 in body weight and weight of

the adrenal glands. There were no significant differences in blood glucose, also in TBARS of muscle, liver and brain. SOD levels increased significantly in CORT respect VEH rats and TAS was lower in CORT compared to VEH. Measurement of FR by EPR shows significant difference in brain in CORT rats administered with respect to VEH. The performance tests indicated a decrease in locomotor activity after repeated administration of CORT, in the plus maze test and forced swimming test was evident, respectively, a reduction of time in open arms and an increased rest time, during test forced swimming, decreased swimming time. Our data support the idea that under stress, glucocorticoids released from the adrenal glands to produce PnO arrive at a state of hyper arousal, which in turn extends the life of IR. Continuous stimulation whit CORT provoke a dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axes and availability of MR and GR receptors by a possible reduction to low, which decays IR and locomotor activity. Our data support the possibility that alterations in the HPA is one of the causes of increased anxiety and depression,

I. INTRODUCCIÓN

El estrés, lo podemos definir, como una amenaza, real o implícita a la homeostasis. En realidad, el estrés es una palabra que hace referencia a desafíos de muchas clases, ya sean físicos (temperatura, esfuerzo físico, trauma) o psicológicos (amenaza inesperada, peligro, derrota). La respuesta fisiológica al estrés, se pone en juego todos los días, y está estrechamente vinculada a los ritmos biológicos del sueño y la vigilia y a los patrones de alimentación y actividad física (Mc Ewen, 2000). En biomedicina, el estrés se refiere comúnmente a una situación en la cual los glucocorticoides adrenales (GC) y catecolaminas están elevados debido a algún desafío.

Los efectos del estrés se pueden manifestar en cuatro dominios diferentes: fisiológico, conductual, experiencia subjetiva y función cognitiva (Steptoe, 2000). Los efectos fisiológicos del estrés incluyen alteraciones en las funciones neuroendocrinas, del sistema nervioso autónomo y sistema inmune. En este trabajo nos enfocamos en estudiar algunas alteraciones conductuales y metabólicas inducidas por la administración de corticosterona (CORT).

Las vías clásicas del estrés involucran inicialmente al hipotálamo que integra la información procedente de las vías sensoriales y viscerales, el hipotálamo activaría dos rutas paralelas: el eje SAM (Simpático-Adreno-Medular) y el eje HPA (Hipotalámico-Pituitario-Adrenal) (Sirera y cols., 2006).

Los glucocorticoides y en el caso de la rata, la corticosterona son secretada de las glándulas adrenales, viaja en la sangre unida a una proteína de transporte, mientras la que esta en forma libre puede unirse a receptores para

mineralocorticoides (RM) y glucocorticoides (RG) en diferentes áreas del cerebro; hipotálamo, hipocampo, amígdala, entre otras, induciendo una señalización intracelular y replicación de RNAm, - vía clásica de acción-, pero se ha descrito que puede actuar a través de la unión a receptores membranales, desencadenando, una respuesta a corto plazo.

En la primera parte de este trabajo (experimento I) estudiamos el efecto agudo de la CORT en el desarrollo de la respuesta de inmovilidad de la rata (RI).

Dentro de las estrategias defensivas que presentan algunas especies en la naturaleza se encuentran: atacar, secretar sustancias de defensa, mimetizarse entre otras, pero la RI constituye la última línea de defensa en los animales, se desencadena cuando se han agotado todas las posibilidades de defensa del organismo. Esta respuesta, por su naturaleza, al parecer está siendo inducida bajo un estado elevado de estrés y en el que se ha demostrado que los niveles de CORT plasmática están elevados.

Para poder estudiar el RI, utilizamos el modelo de inmovilidad por pinzamiento del cuello de la rata (RIP), (que se describe posteriormente) en ratas que previamente se les había colocado una cánula intracerebral para microinyectar CORT y bloqueadores a los receptores de la CORT.

Se han descrito algunas áreas del cerebro que están involucradas en el RI pero, todavía, no se conoce el área que integra las señales que lo desencadenan. Decidimos estudiar algunos núcleos del puente por la siguiente razón; se sabe que en el área del puente del tallo cerebral, se localizan núcleos que participan en la inducción a los estados del sueño, por lo cual se decidió colocar las cánulas apuntando hacia núcleos específicos de esta área. Se microinyectó CORT y

bloqueadores a ésta y se determinó la participación de alguno(s) de estos núcleo(s) en el RI.

En la segunda parte de este trabajo (experimento II), se simuló un estado de estrés crónico mediante la administración sistémica repetida de CORT por 12 días y determinamos la función moduladora de la CORT sobre el RI. El modelo que utilizamos en este trabajo nos condujo, de forma necesaria, a medir algunos de los efectos sistémicos de la CORT, como los relacionados con la formación de radicales libres (RL) en cerebro, e hígado, cuantificados por dos métodos; indirecto, a través de la medición de la formación de malondialdehído (MDA) y directo, a través de la medición de RL en el equipo de resonancia paramagnética electrónica (EPR), dando una descripción bastante completa de los efectos de la CORT en el metabolismo de la rata, así como los efectos sobre algunas conductas registradas utilizando las técnicas de campo abierto (actividad locomotora) , nado forzado (modelo validado para el estudio de la depresión) y laberinto elevado (ansiedad).

II. ANTECEDENTES

2.1 Estado de alerta y sueño

El tallo cerebral contiene circuitos de neuronas que pueden incrementar el nivel de alerta y atención de un animal (en inglés: arousal). Las aferencias sensoriales, que son los acontecimientos que comúnmente producen arousal, activan la formación reticular por medio de axones colaterales de las vías ascendentes sensoriales. Una vez activada, la formación reticular activa a su vez a la corteza cerebral por medio de dos vías (Jones, 1990) la vía dorsal y la vía ventral.

Se han descrito al menos tres sistemas diferentes que intervienen de alguna manera en diversos aspectos del arousal y la vigilia: los sistemas noradrenérgicos, colinérgicos y serotoninérgicos (Marroco y cols., 1994).

Se ha demostrado que la activación de las neuronas del locus coeruleus (LC) (y su liberación de noradrenalina), localizado en la protuberancia dorsal, aumenta el estado de vigilia (Aston-Jones y Bloom 1981a,b). Así como la activación de dos grupos de neuronas localizadas en la protuberancia y en el prosencéfalo basal (con su liberación de acetilcolina) causa activación y desincronía cortical cuando son estimulados (Jones, 1990).

Los núcleos de rafé, localizados en las regiones bulbar y pontina concentran la mayor cantidad de neuronas serotoninérgicas, se ha demostrado que su estimulación origina conducta locomotora y en el encéfalo arousal cortical (Peck y Vanderwolf, 1991). La mayor actividad de las neuronas serotoninérgicas ocurre durante la vigilia pero específicamente contribuyen en la facilitación de

movimientos automáticos y continuos, como caminar, masticar o acicalarse (Jacobs, 1993). Cuando los animales realizan respuestas de orientación hacia estímulos novedosos, la actividad de estas neuronas decrece (Marrocco, 1994).

Por otro lado, la conducta de sueño presenta dos patrones: sueño con movimientos oculares rápidos (MOR) y sueño sin movimientos oculares rápidos o de ondas lentas (no MOR). El sueño no MOR está dividido en cuatro etapas (definidas por la actividad del EEG) y las dos últimas etapas (3 y 4) se les conoce como sueño de ondas lentas con una marcada sincronización de las ondas. El estado de alerta consiste en la actividad beta desincronizada (13-30 Hz); la relajación y el adormecimiento consisten en actividad alfa (8 - 12 Hz). El sueño MOR o sueño paradójico está constituido por movimientos rápidos de los ojos, desincronización del EEG (presencia de ondas beta), respuesta genital, sensibilidad a los estímulos externos, y parálisis muscular (Ganong, 2000).

La parálisis muscular del sueño paradójico se ha relacionado con la activación de las neuronas del núcleo magnocelular que se localiza en el bulbo medial. Neuronas del núcleo magnocelular establecen sinapsis inhibitorias con neuronas motoras de la médula espinal (Morales,1987). Se ha reportado la presencia de neuronas secretoras de glicina, responsable de la inhibición de las neuronas motoras en la médula espinal (Forst y cols., 1990).

2. 2 Estado de alerta y estrés

Las experiencias estresantes o aversivas alteran el estado de alerta y los ciclos de sueño-vigilia. Por el contrario, la interrupción de los ciclos de sueño-

vigilia puede activar las respuestas al estrés. Aunque los mecanismos implicados en los efectos de la experiencia desagradable en la alerta y los ciclos de sueño-vigilia no se entienden claramente, la evidencia apunta hacia un papel de los neuropéptidos relacionados con el estrés, los neurotransmisores y las hormonas que actúan sobre los sistemas de alerta en el sistema nervioso central (Lowry y cols., 2001).

Se ha sugerido desde hace mucho tiempo el papel que tiene el LC que abastece de noradrenalina a través del sistema nervioso central en la inducción de un sistema de alerta. La noradrenalina incrementa el estado de alerta, en parte, por la acción de receptores β y α localizados en múltiples estructuras subcorticales. Estudios anatómicos recientes sugieren que la alerta aumenta por acción de la noradrenalina y que no está limitada al sistema del LC y parece incluir grupos celulares noradrenérgicos A1 and A2. Así, la modulación noradrenérgica de los estados de alerta involucra sistemas noradrenérgicos múltiples actuando dentro de regiones subcorticales múltiples. Mejorar el estado de alerta es un aspecto importante del estrés y de la acción de fármacos psicoestimulantes. La evidencia indica que los sistemas noradrenérgicos probablemente juegan un papel importante tanto en la activación relacionada con el estrés y el estado de alerta inducida por psicoestimulantes (Berridge, 2008).

La principal función de los núcleos del rafé es la de liberar serotonina (5-hidroxitriptamina, ó 5-HT) al resto del cerebro y participa en los ciclos de sueño y vigilia. Los datos revisados muestran claramente que el neurotransmisor 5-HT no sólo es muy sensible al estrés agudo, sus respuestas son también estrechamente dependientes del tipo de estrés y la región específica del cerebro. Este concepto

es válido para la regulación de la tasa de disparo de las neuronas serotoninérgicas, la actividad y expresión de la triptófano hidroxilasa (la enzima limitante en la síntesis de 5-HT) y de los niveles extracelulares de 5-HT en las regiones terminales. Además, los datos muestran que el sistema 5-HT puede comprometerse en situaciones del funcionamiento anormal del eje HPA, por ejemplo, debido a los cambios en la hormona liberadora de corticotropina o en función de los receptores de corticosteroides (Astrid y cols., 2010)

Los resultados apoyan, además, la hipótesis de que la 5-HT puede modular diferencialmente la morfología neuronal en el hipocampo y la amígdala en función de los niveles de expresión de los subtipos del receptor 5-HT cuando se administró CORT (Xua y cols., 2011).

Otro sistema que se ha demostrado su participación en las alteraciones en el estado de alerta y el estrés es el de la hipocretinas/orexinas (HCRT), la evidencia sugiere una participación importante de HCRT en condiciones de gran alerta como el estrés (Berridgea y cols., 2010).

2.3 Glucocorticoides y estrés oxidativo

Los glucocorticoides ejercen efectos generalizados que sirven para coordinar las respuestas para hacer frente a situaciones de estrés. El incremento en los niveles de glucocorticoides durante el estrés puede afectar la capacidad antioxidante total del organismo.

Durante el metabolismo, las células producen constantemente radicales libres (RL), y esta producción puede aumentar debido a factores exógenos, como

el estrés. Un desequilibrio entre la generación de los RL y la defensa antioxidante en una célula dada resultará en estrés oxidativo, el cual puede dañar la célula en cuestión. Se sabe también que la respuesta al estrés estimula varias vías dañadas, provocando un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) radical hidroxilo (OH^\cdot) y radicales aniónicos superóxido (O_2^\cdot), que conducen a la peroxidación lipídica, oxidación proteica, daños en el DNA y muerte celular (Sahín y Gümüşlü, 2006).

La medición de los niveles de ácido tiobarbitúrico (TBARS) son un indicador de estrés oxidativo, ya que la peroxidación de los fosfolípidos insaturados de la membrana lipídica es la principal actividad llevada a cabo por las ERO y se han reportado modificaciones en los niveles de TBARS en diversos tejidos con diversos modelos de estrés: en el modelo de restricción de movimiento se ha reportado un incremento de TBARS en cerebro (Fontella y cols., 2005) en hígado. (Sahín y Gümüşlü, 2007) y en músculo (Ohtsuka y cols., 1998) con el modelo de inyección repetida de CORT. Sin embargo, la restricción aguda no provoca cambios de TBARS en hipocampo y en otras áreas cerebrales como corteza cerebral o estriado (Marzatico y cols., 1998). Las variaciones en los niveles de lipoperoxidación depende del tejido analizado, y/o del modelo que se utilice para inducir el estrés (Sahín y Gümüşlü, 2007). La determinación de TBARS es un método fácil para estudiar el efecto de diferentes tratamientos en la peroxidación lipídica (Konigsberg, 2008). La información relacionada con la medición de los niveles de RL de forma directa (con el equipo de EPR) inducido por la administración repetida de CORT es poca o escasa comparada con la información que se ha reportado utilizando métodos indirectos como el de la

medición de TBARS, en los que los reportes no coinciden con los valores de actividad de enzimas antioxidantes o producción de TBARS debido a la diversidad de modelos de estrés reportados.

2.4 Glucocorticoides y conducta

Aparte de las numerosas acciones metabólicas e inmunológicas de los glucocorticoides, se ha demostrado que ejercen efectos sobre el cerebro para regular algunas conductas, incluyendo la respuesta de inmovilidad, actividad motora, el comportamiento sexual, la memoria y el aprendizaje (Coddington y cols., 2007; Kent y cols., 2000; Quirarte y cols., 2009; Sajadi y cols., 2006; Sandi y cols., 1996; Tenk y cols., 2006; Zamudio y cols., 2009).

Los efectos de los glucocorticoides en el cerebro están mediados por dos tipos de receptores, el receptor de mineralocorticoides (MR) y el receptor de glucocorticoides (GR). MRs se une con la CORT con gran afinidad y están principalmente localizados en el sistema límbico y determinadas zonas del tallo cerebral, en cambio, los GRs tienen una menor afinidad por la CORT y están ampliamente distribuidos por todo el cerebro (De Kloet y cols., 2006; Joel y De Kloet, 1994). Las acciones de los glucocorticoides sobre los receptores de esteroides intracelulares están mediados a nivel genómico (De Kloet y cols., 1998) Sin embargo, acciones rápidas no genómicas de los glucocorticoides también se han reportado (Tasker y cols., 2005).

Para hacer frente a experiencias estresantes, los animales activan el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) y los sistemas de simpato-adreno-medular

(Fulford y Harbuz, 2005). La activación del eje HPA aumenta la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) desde el hipotálamo, que a su vez estimula la secreción de adrenocorticotropina (ACTH) de la pituitaria, concluyendo en la secreción de glucocorticoides (CORT en roedores) de las glándulas suprarrenales a la sangre (Herman y Cullinan, 1997). Además, la activación simpática potencia la secreción de catecolaminas adrenales, principalmente la hormona adrenalina. Por lo tanto, para la adaptación adecuada a un problema de estrés agudo, es necesaria una coordinación de las acciones de ambos sistemas.

Las evidencia sugieren que los efectos de los glucocorticoides son mediados por mecanismos rápidos no genómicos (Wehling, 1997; Haller y cols., 1998; Falkenstein y cols., 2000). Estos mecanismos son poco conocidos, y se identifican indirectamente mediante la evaluación de la rapidez del efecto, y su resistencia a la inhibición de la síntesis de proteínas y/o el bloqueo de MR o GR. En general, los efectos que ocurren en mucho menos tiempo de 15 minutos (la velocidad más rápida medida de los efectos genómicos (Hallahan y cols., 1973) y que no están bloqueados por la inhibición de la síntesis de proteínas o por el bloqueo de MR o GR son atribuidos a mecanismos no genómicos.

Los efectos rápidos, no genómicos de los glucocorticoides pueden constituir un importancia potencial, para el tiempo de respuestas rápida a los desafíos. Hay muchos fenómenos de comportamiento que son potencialmente controlados por mecanismos no genómicos de los glucocorticoides (por ejemplo, el respuesta lordótica en las ratas (Kubli-Garfias, 1990); salto de perca de gorriones, Breuner y cols., 1998), pero sólo hay dos en los que la participación de estos mecanismos ha sido probada. La inhibición rápida, no genómica de la conducta de cortejo

masculino en el tritón (*Taricha granulosa*) además se ha descrito en esta especie, un procedimiento específico, no genómicos de receptor de membrana para los glucocorticoides (Orchinik y cols., 1991; Rose y Moore, 1999). Otro ejemplo de efectos no genómicos de glucocorticoides es el aumento rápido de la actividad locomotora. En ratas, la locomoción en un ambiente novedoso aumenta con la corticosterona, y el efecto fue resistente tanto a la inhibición de la síntesis de proteínas y al bloqueo de MR y GR (Sandi y cols., 1996).

2.5 Glucocorticoides y RI

La respuesta de inmovilidad es un comportamiento que desarrollan algunos animales en la naturaleza y que se ha conceptualizado como estrategia adaptativa de supervivencia evolutivo (Marx y cols., 2008). También se ha referido como "la muerte fingida", "hipnosis animal", "Playing Possum", "miedo", "inmovilidad tónica", y "reflejo de inmovilidad" (Gallup Jr., 1974). Para describir más adecuadamente este comportamiento, en este trabajo, vamos a utilizar el término RI que fue sugerido por Klemm (1989). La RI es un estado reversible de la inmovilidad causada por la restricción física, en este estado existen diversos grados de actividad muscular y una falta de respuesta en relación a los estímulos externos. No obstante, los animales durante la RI no están dormidos, sino que puede monitorear activamente el medio ambiente (Gallup Jr. y cols., 1980). Una presa capturada que se inmoviliza en lugar de luchar puede aumentar su posibilidad de escapar si el depredador temporalmente disminuye su sometimiento bajo el supuesto de que su presa está muerta (Bracha, 2004). En el laboratorio, la RI

puede ser inducida en ratas mediante la sujeción del cuello seguida de la inversión y la restricción (De la Cruz y cols., 1987). En cuanto al mecanismo neural de la RI, es probable que implique a la formación reticular del tallo cerebral, con influencias de otros componentes del cerebro, sobre todo de la neocorteza, los ganglios basales y el sistema límbico (Klemm, 2001). El sustento en el mecanismo anterior procede de estudios en ratas recién nacidas así como de ratas mesencéfalicas (De la Cruz y cols., 1987, 1995), donde la inmadurez o la ausencia de la parte central y anterior del cerebro provocan una sobreexpresión de la RI. Además, el papel modulador del sistema límbico en la RI también ha sido reportado, por ejemplo, la amígdala ejerce un efecto modulador positivo en la RI (Davies y cols., 2002, Leite-Panissi y Menescal, 2002), por el contrario, el hipocampo parece tener la función opuesta (Flores y cols., 2005; Woodruff y cols., 1975). En este sentido, el temor por parte de la presa se considera un antecedente que facilita el RI (Marx y cols., 2008), por otra parte, existe amplia evidencia de que los estímulos estresantes modulan el RI positivamente (Carli y cols., 1981; Faure y cols., 2003; Henning, 1978; Jones y cols., 1994; Miranda y cols., 2006; Zamudio y cols., 2009). Así, algunas de las hormonas del estrés (por ejemplo la adrenalina y los glucocorticoides) deben desempeñar un papel importante para facilitar la RI en situaciones estresantes.

2.6 Control Neural de la RI

Se han hecho algunos estudios para determinar él o los posibles centros de control del RI en el tallo cerebral: en aves, la actividad neuronal en los núcleos del

rafé, se relaciona inversamente con la RI; es decir, una reducción en el disparo de estas neuronas se correlaciona con aumentos en la duración de la RI (Wallnau y Gallup Jr., 1977). Durante la etapa de sueño paradójico existe una atonía muscular de la cual, se sabe, en el LC es responsable; sin embargo, en experimentos hechos en conejo, la lesión en el LC interrumpió la etapa de sueño paradójico y la consecuente atonía, pero no modificó la duración de la RI (Braun y Pivik, 1983). Por otro lado, en la rata se ha identificado un núcleo en el puente: el núcleo reticular tegmental pontino (RtTg), como parte de un subsistema inhibidor de control motor que media las respuestas de inmovilidad provocadas por la inyección sistémica de morfina o haloperidol, en vista de que la lesión bilateral del RtTg o la administración de GABA intraRtTg impiden el efecto de estas drogas (Zamudio, 1999).

Se ha reportado el efecto de los principales neurotransmisores sobre la RI: Dopamina, acetilcolina, norepinefrina, serotonina, opiodes endógenos, acetilcolina y otros. Activando o inhibiendo neuronas en diferentes áreas del cerebro, y brindando información, de la localización de los centros que modulan del RI.

El RI aparentemente es controlada por un sistema motor localizado en la formación reticular (Klemm, 1971), dicha afirmación se sustenta porque: a) en las ratas adultas decorticadas la duración del RI es mayor respecto a las controles b) La lesión bilateral de la estructura equivalente a la neocorteza de mamíferos, arquiestriado intermedio de las aves, provoca un incremento en la duración de RI (Maser y cols., 1973).

Klemm 1976, propuso que el control del RI se localiza en la formación reticular del tallo cerebral y es activado por un patrón específico de entradas

sensoriales (táctiles, propioceptivas, visuales, etc). Este sistema de control actúa sobre un patrón generador de la respuesta en las motoneuronas espinales y es modulado por estructuras cerebrales más rostrales: el sistema límbico, con un papel excitador y la corteza cerebral con un inhibitorio. Una vez que se dispara el RI, se requiere que el centro de control del tallo cerebral continúe activo, quizás por medio de circuitos reverberantes, con una disminución gradual que provoca la terminación espontánea del fenómeno (Rakshit y Klemm, 1980).

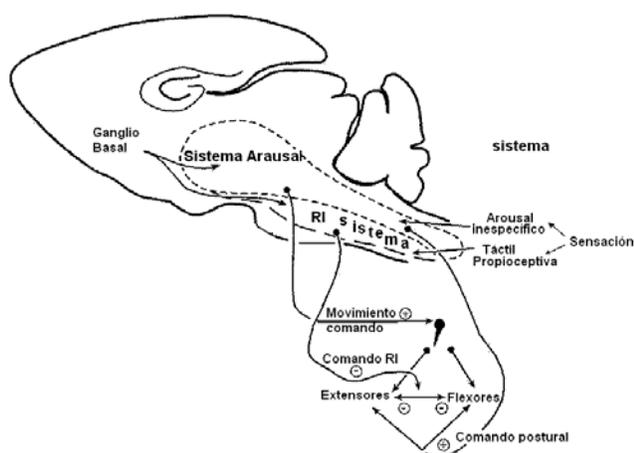


Figura1. Modelo propuesto de un sistema de respuesta de inmovilidad (RI). La RI está distribuido como una población neuronal dentro del cerebro basal anterior, mezclado con áreas del puente y de la formación reticular mesencefálica que normalmente median influencias ascendentes de alerta y excitación motora descendente. Normalmente los estímulos del sistema de alerta son sensitivos pero, determinados patrones sensitivos propioceptivos y táctiles pueden activar selectivamente el RIS. El RIS cuando se activa (desenmascara), inhibe la relación reciproca normal entre comandos control para el paquete de músculos flexores y extensores así que, los comandos de secuencia y la locomoción está inmóviles. Mientras tanto, los comandos de tono postural continúan siendo entregados a los músculos flexores y extensores, lo que explica el mantenimiento de posturas inusuales que es característico de muchas formas de RI.

Así, la hipótesis de que algunas áreas pontinas podrían ser blanco para la CORT en la modulación de la RI es debido a la relación entre la RI con el comportamiento del sueño-vigilia (Overeem y cols., 2002).

2.7 Núcleo pontino oralis

El núcleo pontino oral está localizado en la formación reticular pontina a la cual se le ha relacionado con los estados de sueño y vigilia.

Utilizando inmunocitoquímica de C-fos como un marcador funcional de la actividad neuronal, se encontró un grupo de neuronas GABAérgicas dentro de la parte lateral del PnO que es activado durante el estado de vigilia. Se ha sugerido además que las neuronas GABAérgicas que están localizadas en el núcleo reticular pontino caudal y rostral y en el mesencéfalo proyectan al PnO; dichas neuronas pueden contribuir al sistema GABAérgico que es responsable para la regulación del sueño activo y la vigilia.

(Xi, 2004)

También se sabe que el PnO recibe inervación colinérgica del núcleo tegmental laterodorsal / núcleo tegmental pedunculopontino (LDT/PPT), y se postula la liberación Ach de neuronas colinérgicas de manera reversible. También se ha demostrado que la lesión de las neuronas colinérgicas en el (LDT/PPT), elimina el sueño activo, mientras que la estimulación eléctrica del (LDT/PPT), incrementa el sueño activo (Xi, 2004)

La microinyección de agonistas colinérgicos, antagonistas GABAérgicos o factor de crecimiento nervioso en el PnO, induce un estado activo de sueño. Las neuronas de PnO son células efectoras para los fenómenos de sueño activo, incluyendo la iniciación de las ondas PGO y movimiento rápido de los ojos. En particular las neuronas PnO son un componente clave en el sistema inhibido del

tallo cerebral-médula espinal que es responsable en la atonia muscular durante el sueño activo (Xi, 2004).

Vertes (1982) informó que las células en el PnO descargan selectivamente durante la activación conductual y la alerta, y se ha descrito que las neuronas colinérgicas del PnO ventral activan neuronas noradrenérgicas del LC (Fenik y cols., 2005).

Se ha sugerido además que las neuronas GABAérgicas que están localizadas en el núcleo reticular pontino caudal y rostral y en el mesencéfalo proyectan al PnO; dichas neuronas pueden contribuir al sistema GABAérgico que es responsable para la regulación del sueño activo y la vigilia (Xi, 2004)

2.8 Núcleos de rafé

Los núcleos de rafé consisten en numerosos grupos diferentes de neuronas del tallo cerebral que se encuentran situadas cerca de la línea media. Dan origen a una proyección ascendente y a otra descendente. La ascendente se dirige al diencefalo y al telencefalo, y se origina básicamente en los núcleo de rafé situados en el mesencéfalo y en la protuberancia rostral.

La proyección descendente termina en el bulbo raquídeo, el cerebelo y la médula espinal y se origina fundamentalmente en los núcleos de rafé de la protuberancia caudal y el bulbo raquídeo (Martin, 2004).

Con formato: Justificado, Espacio Después: 10 pto, Punto de tabulación: 0.5 cm, Izquierda

2.9 Planteamiento del problema

De los modelos existentes para el estudio del reflejo de inmovilidad, el del pinzamiento del cuello ha sido muy utilizado en nuestro laboratorio por reproducir eficientemente el fenómeno que estudiamos. Uno de los aspectos más importantes en el estudio de cualquier conducta es el de llegar a conocer la(s) área(s) o núcleo(s) del cerebro responsables de comportamiento que se estudia.

Algunas de las áreas que han sido señaladas como posibles centros de control de la RI es, por ejemplo, el Locus coeruleus (LC), sin embargo su lesión, no modifica la RI (Braun y Pivik, 1983), en los núcleo de rafé del tallo cerebral se ha reportado una relación inversa entre el disparo de neuronas de este núcleo con la RI (Wallnau y Gallup Jr., 1977). El núcleo reticular tegmental pontino (RtTg), se le ha considerado como un subsistema inhibitor de control motor que media la RI (Chesire y col., 1983). El arquiestriado intermedio de las aves, estructura equivalente a la neocorteza de mamíferos, su lesión bilateral provoca un incremento en la duración de la RI (Maser y cols., 1973).

Klemm 1976, propuso que el control del RI se localiza en la formación reticular del tallo cerebral y es activado por un patrón específico de entradas sensoriales (táctiles, propioceptivas, visuales, etc). En cuanto al mecanismo neural (s) de la RI, es probable que implique a la formación reticular del tallo cerebral, con influencias de otros componentes del cerebro, sobre todo de la neocorteza, los ganglios basales y el sistema límbico (Klemm, 2001).

Las evidencias demuestran una posible participación de núcleos del tallo cerebral sin que se sepa hasta la fecha qué núcleos son los que controlan la RI,

adicionalmente, se sabe que el RI y el sueño comparten algunas características y que el PnO está involucrado en los procesos de sueño vigilia ¿el PnO y RMA son centros de control de la RI?

Se ha reportado que los niveles de CORT se elevan en condiciones de estrés y en situaciones estresantes a las que se ha sometido a las ratas se ha reportado que aumenta el RI. En humanos el reflejo tónico de inmovilidad que es equivalente al RI que estudiamos en la rata, se ha reportado que aumenta en situaciones de peligro, por ejemplo en las víctimas de ataques sexuales o accidentes aéreos, por lo que sería pertinente preguntar si ¿la CORT modula el RI? y si es así, en qué área del tallo cerebral ¿ PnO, RMA o mla?

Algunas de las alteraciones de la conducta, se sabe que pueden ser debidas a modificación morfológica en el hipocampo, debido a una continua exposición a niveles elevados de CORT. El estrés además de afectar a la memoria y a la plasticidad sináptica puede alterar la morfología de las dendritas e inhibir la neurogénesis en el cerebro adulto, lo que potencialmente puede tener un impacto en la memoria. Se ha mostrado que el estrés o la administración de corticosterona sostenida (por ejemplo 3 semanas) puede producir atrofia de las espinas dendríticas en diversas áreas del hipocampo (CA3, pero también CA1 y giro dentado, McEwen, 2000).

Por otro lado, también se ha reportado incremento en los niveles de radicales libres debido al estrés o administración de CORT. La administración de CORT disminuye significativamente la SOD y CAT, así como los niveles de glutatión, mientras que los niveles de peroxidación de lípidos aumenta, lo que

sugiere un efecto pro oxidante de la CORT (Zafir y Bono, 2009). El daño oxidativo, provocado por el estrés, difiere entre las áreas del cerebro y puede contribuir a mecanismos degenerativos de las células (Marzatico, 1998). Por lo que sería pertinente preguntar si la administración repetida de CORT por 12 días ¿provoque incremento de los niveles de peroxidación de lípidos en el cerebro, hígado y músculo de la rata?

III OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar la modulación que ejerce la CORT sobre la respuesta de inmovilidad por pinzamiento del cuello, la actividad locomotora y los niveles de radicales libres en distintos tejidos de la rata.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de la administración de la CORT sistémica y la aplicación intracerebropontina de bloqueadores a receptores de mineralocorticoides y glucocorticoides, sobre la respuesta de inmovilidad y conducta locomotora de la rata.
- Evaluar el efecto de la administración de la CORT dentro del núcleo pontino oral y la aplicación de bloqueadores a receptores a mineralocorticoides y glucocorticoides en los mismos núcleos, sobre la respuesta de inmovilidad y conducta locomotora de la rata.
- Evaluar la actividad locomotora y la respuesta de inmovilidad en ratas con administración de CORT sistémica por 12 días.
- Cuantificar los radicales libres en tejidos (músculo esquelético, hígado y cerebro) de ratas con administración con CORT sistémica por 12 días.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento I

4.1.1 Animales

Se utilizaron 82 ratas Wistar macho de (250-300 g) de nuestra propia granja. Las ratas se colocaron en cajas individuales una semana antes de el procedimiento quirúrgico y se mantuvieron a (22 ± 2 °C) y ciclo de luz oscuridad controlados de 12:12 (luces encendidas de 07:00-19:00 Hrs.) con acceso libre al agua y al alimento.

El protocolo experimental fue aprobado por el comité de ética y seguridad de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas y cumplió con la normatividad establecida en "the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals 1996, National Institute of Health", así como con los establecidos por "La Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio" del Consejo Mexicano para el Cuidado de Animales (NOM-062-ZOO-1999).

No se escatimaron esfuerzos para aliviar cualquier dolor o molestia que pudiera ser experimentado por los animales durante las pruebas. Se utilizó el número mínimo de animales necesarios para alcanzar los objetivos de este estudio. Las pruebas de comportamiento siempre tuvieron lugar entre las 10:00 y las 14:00 hrs..

4.1.2 Procedimiento quirúrgico

Los animales se anestesiaron mediante inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (30 mg / kg) (Pfizer, México) y se colocaron en un aparato estereotáxico (David Kopf Instruments, Tujunga CA, EEUU.). A todas las ratas se

les implantó una cánula guía (de calibre 23 x 7 mm), destinado a 1) El núcleo pontis oralis derecho (PnO) con las coordenadas estereotáxicas (Paxinos y Watson, 1986): AP - 8,0 mm; ML -1,4 mm; y DV -7.0 mm, 2) zona de lemnisco medial derecho (mla): AP - 8,0 mm; ML -1,0 mm; y DV -8,6 mm y, 3) rafe paramediano derecha (PMR): AP - 8,0 mm; ML -0,5 mm; y DV -7,0 mm. La cánula guía se fijó en el cráneo con dos tornillos y acrílico dental. Un estilete se insertó en la cánula guía y las ratas se colocaron de nuevo en las jaulas individuales durante una semana antes de la prueba de comportamiento.

4.1.3 Microinyección

Los fármacos utilizados fueron corticosterona 21-acetato (CORT), espironolactona (SPIRO) y mifepristona (MIFEP) de Sigma-Aldrich, México. Todos los fármacos se disolvieron en el vehículo (VEH: 45% hidroxipropil- β -ciclodextrina (Sigma-Aldrich, México) 0,1 M de solución salina de tampón fosfato, pH 7.4). Los fármacos fueron inyectados a través de una cánula guía (de 31 x 10 mm de calibre) que se extendía más allá de 1 mm de la punta de la cánula guía. La cánula de inyección fue conectada a una jeringa de 1 μ l (Hamilton Co., Reno, Nevada, EEUU.) con tubo TYGON (ID: 0,25 mm; OD: 0,76 mm) lleno de agua estéril. Un μ l de CORT (0,01 y 0,05 μ g/1.0 mL), SPIRO (0,5 μ g/1.0 mL), MIFEP (0,5 μ g/1.0 mL) o VEH se inyecta a través de la cánula en 60 s, la cánula se dejó más de 60 s para evitar reflujo de del fármaco hacia la cánula. Después de eso, la cánula se retiró y el estilete fue devuelto a la cánula guía.

4.1.4 Procedimiento histológico

Al final de los experimentos conductuales, los animales fueron sacrificados por una sobredosis con pentobarbital sódico (150 mg/kg, ip), después se perfundieron vía intracardíaca con solución salina al 0,9%, seguido de formol al 4%. Los cerebros fueron removidos manualmente y almacenados durante al menos 48 h en formol al 10%. Se cortaron secciones coronales de 100 μm de espesor utilizando un vibratomo (Cambden instruments Lafayette, IN, EEUU.), se tiñeron con violeta de cresilo y se montaron con resina a un portaobjetos. Los sitios de microinyección se localizaron bajo microscopio de luz (SMZ-10A, Nikon Instruments Inc., Melville, NY, EEUU.), en relación con las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (1986). Sólo se reportaron los resultados de las observaciones del comportamiento de las ratas que se encontraban dentro de los sitios de microinyecciones PnO, mla o PMR.

4.1.5 Respuesta de inmovilidad (RI)

La prueba de respuesta de inmovilidad, se indujo por el pinzamiento del cuello, se provocó mediante la colocación de una pinza (una pinza tipo caimán de 5 cm de longitud con sus dientes protegidos con cinta adhesiva para evitar cualquier daño sobre la piel de la rata) entre la base del cráneo y la parte posterior de las orejas.

Otra pinza similar se colocó en la parte ventral del cuello. Después, se sujeto al animal alrededor del tórax con la mano, rápidamente se invirtió y se apretó sobre su espalda hasta que dejara de ofrecer resistencia (~ 2 segundos).

Después se retiró la mano lentamente hasta que el animal se quedará inmóvil (inicio de la RI).

Cuando la RI tuvo éxito, la duración se midió desde el momento en el que la mano se retiró hasta que el animal recuperó la posición prona (Zamudio y cols., 2009).

4.1.6 Actividad en campo abierto

Las ratas se colocaron en medio del campo abierto (una caja de madera pintada de negro con medidas de 60 cm x 60 cm x 30 cm). Las condiciones de luz fueron comparables a la intensidad de luz del bioterio, dos lámparas fluorescentes de 32 W colocadas a 208 cm por encima del centro del campo, con 195 Lx a nivel del suelo de la caja. La actividad locomotora espontánea se midió con un analizador de imágenes de vídeo (Videomex-V, Instrumentos Columbus, Columbus, OH, EEUU). Se realizó un seguimiento de la distancia que el animal recorrió (DT), el tiempo de ambulación (TA), el tiempo invertido en una actividad no ambulatoria (TNA), y tiempo de reposo (TR). También muestra los trazados de la ruta durante una sesión. El piso del campo abierto, se limpió con una solución detergente, entre cada medición.

4.1.7 CORT en PnO, mla PMR (experimento 1.1)

Para probar el efecto de la CORT en algunas zonas pontinas, se formaron tres grupos de animales: 1) grupo PnO (n = 14), las ratas con una cánula guía dirigida a el núcleo oralis pontis, 2) grupo de mla (n = 14), cánula guía dirigida a la zona del lemnisco medial, y 3) grupo de PMR (n = 12), cánula guía dirigida al rafe paramediano. El día de la prueba, las ratas fueron llevadas, en jaulas individuales de polisulfonato, la zona de prueba se encontraba en el mismo edificio y en el mismo piso en el que se encontraba la cámara de la colonia. Los animales de cada grupo recibieron a través de la cánula 1 μ L CORT (0,05 μ g/1.0 μ L) ó 1.0 L de VEH. En cada grupo de ratas, la mitad recibió VEH y la otra mitad CORT. Luego, las ratas fueron colocadas en las cajas de prueba y a los 3, 7, 15, 30, 60 90 y 120 minutos después de la microinyección se midieron, la actividad locomotora y la respuesta de inmovilidad

Los efectos de una dosis más baja de CORT (0,01 μ g/1.0 μ L) en PnO se evaluó en otro grupo de ratas aparte (n = 6).

4.1.8 Antagonistas a MR y GR en el PnO. (experimento 1.2)

La intención de este experimento fue demostrar si los efectos de CORT intra-PnO observados en el experimento 1 habían sido mediados por MR y/o GR. En este experimento, 1.0 μ L de VEH o antagonistas de los receptores de corticosteroides se microinyectaron en PnO y 5 minutos después las ratas recibieron una segunda administración intra-PnO de 1.0 μ L de CORT (0,05 μ g/1.0 μ L) o VEH.

Las ratas implantadas con cánula dirigidas a el PnO fueron divididas al azar en seis grupos experimentales: 1) VEH-VEH (n = 6), primera y segunda microinyecciones de vehículo, 2) VEH-CORT (n = 6), la primera administración fue vehículo y en segundo lugar corticosterona, 3) ESPIRO-VEH (n = 6), las ratas fueron microinyectados primero con la ESPIRO, antagonista de los RMA (0,05 $\mu\text{g}/1.0 \mu\text{L}$) y una segunda administración de vehículo, 4) MIFEP-VEH (n = 6), se microinyectó MIFEP (0,05 $\mu\text{g}/1.0 \mu\text{L}$) antagonista de los GRs y 5 minutos después las ratas recibieron vehículo. Las ratas de los grupos: 5) ESPIRO-CORT (n = 6) y 6) MIFEP-CORT (n = 6) recibieron ESPIRO / CORT y MIFEP / CORT, respectivamente, los antagonistas de la CORT para MR y GR se utilizaron en las mismas concentraciones que en los grupos anteriores.

Para garantizar un bloqueo óptimo de los receptores de corticosteroides, la dosis de los antagonistas seleccionada fue similar a la dosis intracerebral más alta probada previamente en ser eficaces para modificar procesos de aprendizaje y memoria (Sandi y cols., 1996;. De Kloet y cols., 1988;. Smythe y cols., 1997a) y alterar la regulación neuroendocrina (Ratka y cols., 1989, Smythe y cols., 1997b). El día de la prueba, se llevaron a cabo microinyecciones dentro de PnO microinyectando 0,05 $\mu\text{g}/1.0 \mu\text{L}$ y se realizaron las mismas medidas conductuales del experimento 1.1.

4.1.9 Análisis estadístico

Los datos del experimento 1.1 y 1.2 se analizaron mediante un (ANOVA) de dos vías para medidas repetidas considerando el tiempo en el campo abierto o

duración en la respuesta de inmovilidad como factores independientes. Los resultados del experimento 1.2 no se distribuyeron normalmente, y se utilizó una transformación de raíz cuadrada en los datos antes de que fueran analizados por el ANOVA de dos vías para medidas repetidas, con el tratamiento (vehículo, CORT) como el factor entre sujetos y la repetición (medidas hechas a los 3, 7, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la microinyección) como el factor dentro de sujetos. En su caso, la prueba post hoc de Student-Newman-Keuls se utilizó para hacer comparaciones múltiples, entre pares de grupos. El nivel de significancia se fijó en $P < 0.05$. Para todos los análisis se empleó la versión del software SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., San José, CA, EEUU.).

Experimento II

4.2.1 Animales

Se utilizaron 60 ratas Wistar machos de (250-300 g) de nuestra propia granja. Las ratas se colocaron en cajas individuales una semana antes de el procedimiento quirúrgico y se mantuvieron a (22 ± 2 °C) y ciclo de luz oscuridad controlados de 12:12 (luces encendidas de 00:07-19:00 Hrs.) con acceso libre al agua y al alimento. Se formaron dos grupos experimentales: grupo control (n=6) y grupo con corticosterona (n=6). Se administró corticosterona 5 mg/kg (disuelta en etanol absoluto y posteriormente en solución salina 0.9% (Sandi, 1996)). La concentración de 5 mg/kg contenía $< 10\%$ de etanol. El VEH contenía 0.9% de solución salina isotónica por vía intra peritoneal (i.p). La administración se aplicó todos los días entre las 10 y 13 horas por doce días. Durante este tiempo se

tomaron medidas de peso, consumo de alimento y temperatura colonal de las ratas.

El protocolo experimental fue aprobado por el comité de ética y seguridad de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas y cumplió con la normatividad establecida y señalada en el experimento I.

El día 13, las ratas se sacrificaron por una sobredosis de pentobarbital sódico i.p, se perfundieron con solución salina. Se disecaron el hígado, músculo, cerebro, corazón, bazo y glándulas adrenales. Se colocaron en un papel Whatman del # 1 y se pesaron inmediatamente. Se obtuvieron muestras del hígado, de la región del hipocampo en el cerebro y del músculo gastrocnemio de la rata para las determinaciones enzimáticas, de especies reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) y resonancia paramagnética electrónica (EPR).

4.2.3 Parámetros físicos

4.2.3.1 Peso corporal de la rata

Se utilizó una balanza granataria (Michealth, Fujian China, modelo DB3705), para medir el peso corporal de las ratas desde el inicio del experimento a las ratas VEH y las administradas diariamente con CORT hasta los 12 días, las mediciones se realizaron entre las 11 – 13 hrs.

4.2.3.2 Consumo de alimento

Diariamente se midió el consumo de alimento y agua de las ratas VEH y con CORT desde el inicio del tratamiento y hasta los 12 días.

Con formato: Sangría: Sangría francesa: 0.23 cm, Punto de tabulación: 4.44 cm, Izquierda

4.2.4 Hematocrito

Se cortó la punta de la cola de la rata y se colocó la sangre en un capilar con heparina, se selló uno de los extremos del capilar y se centrifugó a 5 000 rpm por 30 min. Posteriormente se midió el paquete celular y plasmático para poder calcular el % de hematocrito.

4.2.5 Hemoglobina

Se tomaron 20 ul de muestra de sangre heparinizada y se colocaron en un tubo con 5 ml de reactivo de Drabkin. Se dejó reposar por 10 min y posteriormente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 540 en un espectrofotómetro (Marca Unico, modelo UV-20100. USA). Se calculó la concentración de hemoglobina y se expresó en g/dL.

4.2.6 Glucosa

El día doce, se dejaron en ayuno de 11 horas a las ratas y por la mañana del día trece se cortó la punta de la cola de la rata y se colocó una gota de sangre en una tira reactiva conectada a un glucómetro (Optium mediSense; Abbott Laboratories, Oxford, United Kingdom) que nos proporcionó los valores de glucosa en mg/dL.

4.2.7 Peroxidación de lípidos

La peroxidación se determinó en hipocampo, por la medición de TBARS y se expresó como contenido de malondialdehído (MDA) por el método de Calderón I. (2007). La lipoperoxidación para sangre, músculo e hígado se midieron por el método modificado de Buege and Aust (1978).

El día de sacrificio, se obtuvieron 100 mg de cada uno de los tejidos para medir TBARS en: hígado, cerebro, músculo esquelético y sangre de la rata. Del cerebro se tomaron muestras a nivel del hipocampo, del hígado se tomó de forma indistinta de alguno de los lóbulos, del músculo gastrocnemio de la rata del lado izquierdo y la sangre se tomó por punción cardiaca y se colocó en un tubo con heparina. El tejido se homogenizó con solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.4, se tomaron 0.5 ml del homogenizo que se colocaron en un tubo al que se le adicionó 1 ml de solución de ácido tiobarbitúrico. Los tubos se dejaron en ebullición por 60 min. Posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm y se leyó la absorbancia a 535 nm, se reportó la cantidad de malondialdehído que se produce por gramo de tejido (MDA/g de tejido).

4.2.8 Antioxidantes totales de la sangre (TAS)

Se midió la capacidad antioxidante en la sangre de todas las ratas utilizando un kit (RANDOX). La prueba se basa en la incubación de compuesto ABTS (2,2'-azino-di-[3-etilbenzotiazolin sulfanato]) con peroxidasa (metamioglobina) y H₂O₂ para dar el radical catión ABTS⁺. El radical presenta una coloración verde-azulada relativamente estable, que se mide a 600 nm. La presencia de antioxidantes en la muestra produce una suspensión de esta

Con formato: Sangría: Primera línea: 1.27 cm, Punto de tabulación: 1.27 cm, Izquierda + No en 1.25 cm + 2.5 cm + 3.75 cm

coloración, siendo esta supresión, proporcional a la concentración de antioxidantes.

El procedimiento consistió en agregar 20 μl de cada una de las muestras en un tubo de ensaye y después 1000 μl de cromógeno (metamioglobina 6.1 $\mu\text{mol/l}$ y ABTS 610 $\mu\text{mol/l}$) mezcló y leyó la absorbancia inicial a 600 nm posteriormente se añadió el sustrato 3 (peróxido de hidrógeno) a la solución, se mezcló y leyó la absorbancia 2 al cabo de 3 minutos. Para calcular la concentración de antioxidantes totales se calculó el valor del Factor = concentración de patrón/ ΔA del blanco - ΔA del patrón). La concentración de de TAS se expresó en mmol/l = Factor x (Δ de A Blanco – Δ A muestra).

4.2.9 Superóxido dismutasa (SOD)

El método emplea Xantina y Xantina Oxidasa (XOD) para formar radicales superóxido, los cuales reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5fenil tetrazolio (I.N.T) para formar un colorante formazán rojo. Se midió la actividad de la superóxido dismutasa por el grado de inhibición de esta reacción.

Se obtuvieron muestras de sangre heparinizada. Se lavaron los eritrocitos en solución salina 0.9%. Se centrifugó la muestra de sangre 10 minutos a 3000 rpm. Se aspiró el suero y este procedimiento se repitió 4 veces. El lisado se diluyó con 0.1 mmol/l con una solución de fosfatos a pH 7.0 de forma que el porcentaje de inhibición cayera entre 30 y el 60%. Se colocaron 50 μl de cada una de las muestras (6 controles y 6 experimentales) y se agregó 1.7 ml de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/l y I.N.T. 0.025 mmol/l), se mezcló y se agregó 0.25 ml de

xantina oxidas. Se mezcló y leyó la absorbancia a 505 nm a los 30 segundos y los 3 minutos en el espectro. Se calculó el valor de SOD tomando en cuenta el valor del porcentaje de inhibición tanto del patrón como de las muestras diluidas y se expresó como unidades de SOD sobre gramo de hemoglobina (U/g Hb). Se empleó un kit para medir la concentración de SOD (RANDOX).

4.2.10 Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas se realizó por la técnica de Bradford, la cual se basa, en la reacción de los aminoácidos aromáticos de las proteínas con el azul brillante de Coomasie G-250.

4.2.11 Resonancia paramagnética electrónica (RPE)

Las ratas se sacrificaron por sobredosis de anestesia e inmediatamente se perfundieron con solución salina isotónica, se siguió el mismo procedimiento con las ratas vehículo y las tratadas con CORT, se tomaron 100 mg de tejido: hígado, cerebro a nivel del hipocampo y músculo gastrocnemio. Se colocaron en viales y se sumergieron inmediatamente en nitrógeno líquido hasta el momento de su medición. Posteriormente se tomaron 0.1 g de muestras de hígado, músculo y cerebro y por turnos se colocaron en un tubo de cuarzo para ser medidas en el espectrofotómetro (JEOL JES RE3X) y operar en la frecuencia de 9.45 GHz (banda X) Con un campo modulador de frecuencia de 100 kHz. El campo magnético se escaneo de 250 a 450 mT. Las muestras se colocaron en un dewar de cuarzo para realizar las mediciones de EPR a 77 K. Los espectros de E R se registraron como la primera derivada de absorción.

Se utilizó el paquete de programación JEOL ES-PRIT que realiza las operaciones de adquisición y procesamiento de datos, simulación, impresión de gráficas en el plotter. Se calculó el valor del factor espectroscópico de resonancia (g), el ancho de línea y área bajo la curva, con la ayuda del mismo programa de software.

Se utilizó el espectro de una muestra de 2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) como patrón para calcular el valor de g (2.0036) y realizar las correcciones en cálculo del valor de g de los espectros obtenidas de las muestras de músculo, cerebro e hígado.

El número de RL, se cuantificó a partir de la obtención del área bajo la curva de los espectros de EPR; la cual es proporcional al número de centros paramagnéticos existentes en la muestra, en este caso el número de RL. Los resultados se expresaron en número de RL en un gramo de tejido.

4.2.12 Actividad en campo abierto

La prueba se realizó con el protocolo descrito en el apartado 4.1.6. Se midió la actividad locomotora el día 12 a las ratas con el VEH y las tratadas con CORT

4.2.13 Prueba de ansiedad en el laberinto elevado

La construcción y el procedimiento de la prueba de laberinto elevado en cruz fueron propuestos por Pellow en 1986. Este laberinto está conformado por cuatro brazos perpendiculares, dos brazos de iguales dimensiones (50 x 10 x 40 cm) y dos brazos abiertos (sin paredes) de (50 x10 cm.). Los cuatro brazos se encontraban elevados a 50 cm del suelo por un eje central. El día trece se

colocaron cada una de las ratas en el centro del laberinto, frente a uno de los brazos abiertos, y así inició la prueba que tuvo una duración de 5 minutos. Las medidas fueron tomadas por un observador que se encontraba fuera del cuarto donde se llevó la prueba.

En esta prueba se midió: a) Frecuencia de entrada en los brazos abiertos. b) Tiempo de permanencia en los brazos abiertos c) Frecuencia de entrada a brazos cerrados. d) Tiempo de permanencia en los brazos cerrados.

Las ratas normalmente evitan la entrada a los brazos abiertos del laberinto y restringen su actividad a los brazos cerrados. El incremento en la actividad y el tiempo de permanencia en los brazos abiertos indica una reducción en la ansiedad

4.2.14 Prueba de nado forzado

Se utilizó el modelo de Porsolt (1978) para probar la actividad depresiva de la CORT. Las ratas fueron forzadas a nadar de forma individual en un cilindro de acrílico transparente con dimensiones de 19 cm de diámetro por 50 cm de altura, se llenó con agua de la llave hasta un nivel de 15 cm de alto y a una temperatura de 22 °C. En la fase de entrenamiento las ratas se sumergieron en el cilindro el día doce de tratamiento por 15 minutos, al día siguiente se realizó la fase de adquisición y las ratas permanecieron en el agua cinco minutos. Se reportó el tiempo de inmovilidad de las ratas en la fase de adquisición. La duración total de inmovilidad se consideró como el tiempo que permaneció la rata flotando en el agua sin ahogarse, realizando los movimientos mínimos de sus extremidades para mantener su cabeza por arriba del agua.

4.2.15 Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de (ANOVA) bifactorial para medidas repetidas para analizar los datos de peso, consumo de alimento, temperatura, actividad locomotora. La prueba ANOVA con un solo factor se utilizó en inmovilidad. La prueba de ANOVA simple en actividad locomotora de ratas con estimulación repetida. ANOVA de una vía para los datos de TBARS, TAS, SOD. Para el peso de los órganos, laberinto elevado y nado forzado, se utilizó una prueba t de Student para muestras independientes. En el caso de la temperatura, hematocrito, hemoglobina y glucosa se realizó una prueba de ANOVA de dos vías. Cuando fue necesario se realizó el procedimiento para comparaciones múltiples Student-Newman-Keuls (SNK). Se utilizó el valor de $p < 0.05$ para la consideración de diferencia estadísticamente significativa. Para todos los análisis se empleó la versión del software SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., San José, CA, EEUU.).

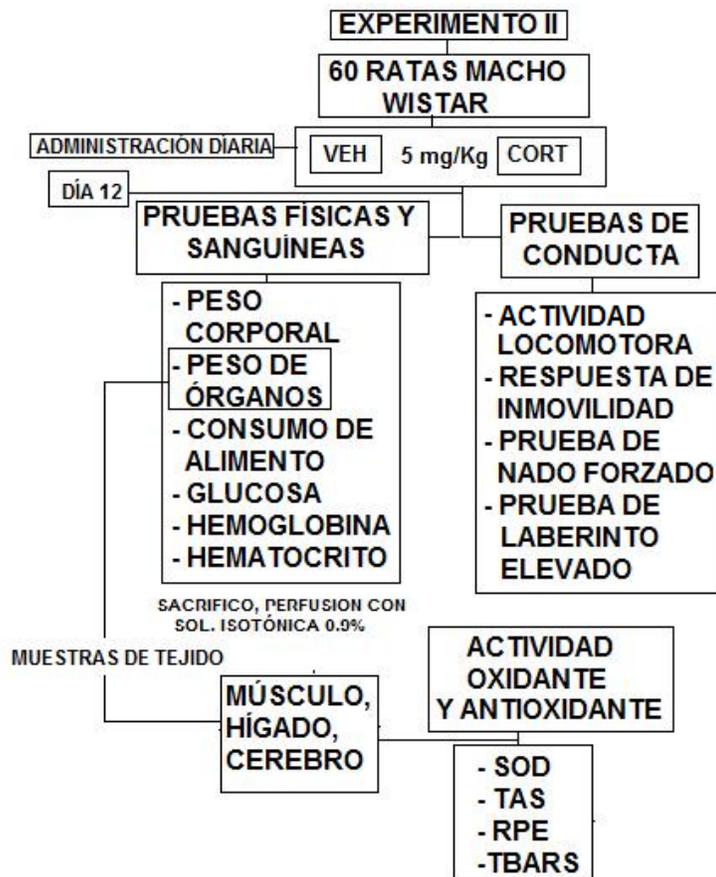


Figura 2. Diagrama del experimento II. Después de la administración repetida de VEH o CORT por 12 días se realizaron pruebas conductuales y físicas, finalmente se sacrificaron las ratas y se tomaron muestras de tejido para medir los niveles de RL.

Con formato: Justificado

V. RESULTADOS

Con formato: Fuente: 18 pto

Experimento I

La microinyección unilateral de corticosterona (CORT) en el núcleo poralis (PnO) dio lugar a una clara modificación conductual. Los animales muestran un incremento en la actividad motora y en la respuesta de inmovilidad (RI), que fue impedido por el pre tratamiento con el antagonista a receptores a mineralocorticoides (MR) espironolactona (ESPIRO) o el antagonista a receptores a glucocorticoides (GR) mifepristona (MIFEP) en PnO. Curiosamente, la activación del comportamiento no se observó cuando la CORT se micro inyectó en la zona del lemnisco medial (mla) o el rafe paramediano (PMR).

5.1 Histología

La figura 3 muestra la ubicación de los sitios de microinyección para las ratas que se incluyeron en el análisis estadístico. EL análisis de las secciones del cerebro a lo largo de la región del puente permitió la ubicación de los sitios de microinyección de CORT o VEH en el plano coronal correspondiente al atlas de Paxinos y Watson (1986) para cada una de las tres estructuras estudiadas (PnO, mla, y PMR). Los sitios de microinyección se localizaron entre -7.8 y -8.7 mm de distancia de bregma.

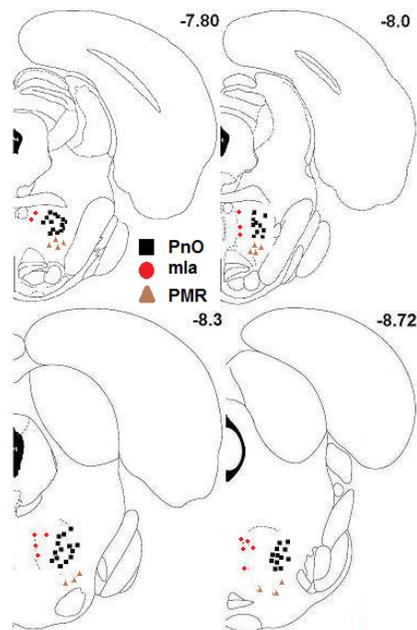


Figura 3. Esquema de cortes coronales del cerebro de la rata a nivel de -7.8 a -8.72 mm AP a bregma en el que se indica la localización de las cánulas sobre los siguientes núcleos: Núcleo pontis oralis (PnO), zona del lemnisco media (mla) y rafe para mediano (PRM).

5.2 CORT en PnO, mla y PMR.

La figura 4 muestra la RIP a lo largo de 120 minutos en ratas con microinyección de CORT (0,05 $\mu\text{g}/1.0 \mu\text{L}$) o VEH en tres áreas del puente. Los resultados muestran que la duración del RI fue mayor en las ratas a las que se administró la CORT en PnO en comparación con las que se administró el VEH (Figura 4a), el ANOVA muestra un efecto estadísticamente significativo debido al tratamiento ($F_{1,12} = 11.78, P < 0,01$), aunque no hubo diferencia significativa debido a la repetición ($F_{6,72} = 1.58, P > 0,05$) o a la interacción entre el tratamiento por repetición ($F_{6,72} = 1.13, P > 0,05$). La CORT en el mla (Figura 4b) no modificó la duración de la RI con respecto a las ratas microinyectadas con VEH ($F_{1, 12} = 0.55, P > 0.05$). Además, el análisis de varianza reveló una diferencia significativa

de la repetición ($F_{6,72} = 2.92$, $P < 0.05$), sin interacción significativa entre el tratamiento por repetición ($F_{6, 72} = 1.29$, $P > 0.05$). La microinyección de CORT en PMR sólo causó un leve aumento en la duración de RI. El ANOVA no detectó diferencias significativas debidas al tratamiento ($F_{1, 10} = 0.79$, $P > 0,05$), aunque hubo diferencias significativas de la repetición ($F_{6,60} = 2.79$, $P < 0,05$) y la interacción entre el tratamiento por repetición ($F_{6,60} = 2.52$, $P < 0.05$).La prueba post-hoc Student-Newman-Keuls (SNK) muestra que la CORT aumentó la duración de RI en comparación con VEH a los 15 minutos después de la microinyección (Figura 4c). La dosis más baja de CORT ($0,01 \mu\text{g}/1.0 \mu\text{L}$) microinyectada en el PnO no modificó la duración del RI, en comparación con las ratas tratadas con VEH microinyectado en el PnO, datos no se muestran.

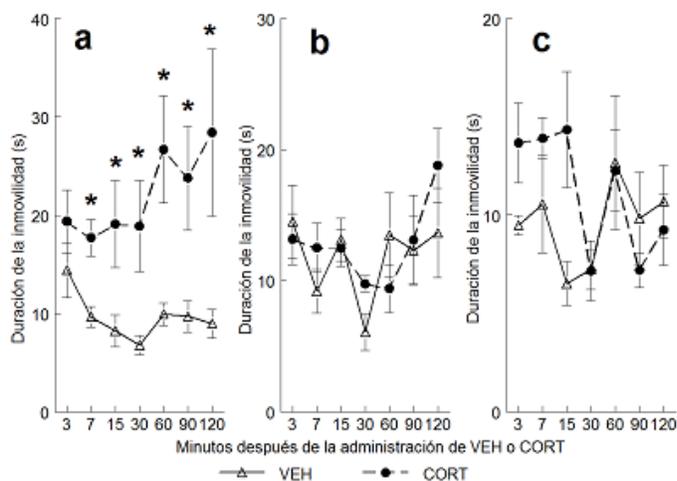


Figura 4 Respuesta de inmovilidad de la rata. Efecto de la microinyección de la CORT y VEH sobre la RI en las siguientes áreas del puente: a) PnO b) mla c) PMR. Los valores son el promedio de error estándar $n = 6 \pm$. (*) $P < 0.05$.

Con formato: Sangría: Primera línea: 1.25 cm

La figura 5a muestra la actividad locomotora como la distancia recorrida (DT) por las ratas después de la microinyección de la CORT o VEH en el PnO. La CORT aumentó la locomoción a lo largo de los 120 minutos de la prueba, después de la microinyección, con respecto a los controles, la ANOVA mostró una diferencia significativa entre los tratamientos ($F_{1,12} = 7.02$, $P < 0,05$) y debido a la repetición ($F_{6,72} = 8.81$, $P < 0,01$), sin embargo, la interacción entre el tratamiento por repetición no fue significativa ($F_{6,72} = 0.91$, $P > 0.05$).

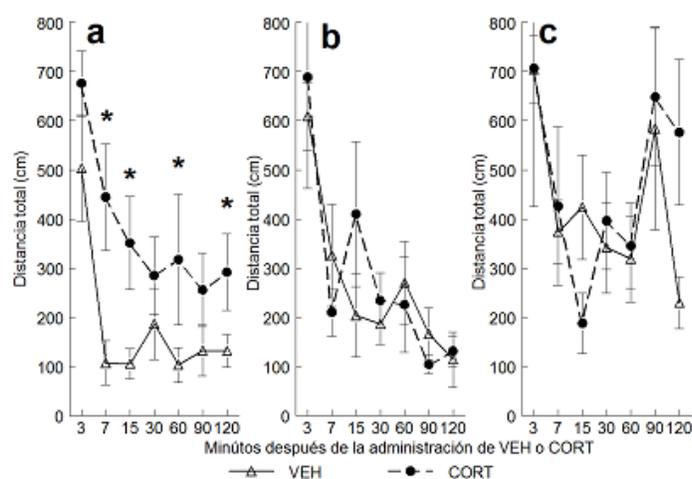


Figura 5. Efecto de la microinyección de la CORT y VEH sobre distancia recorrida (DT) en las siguientes áreas del puente: a) PnO b) mla c) PMR. Los valores son el promedio de \pm error estándar. $n = 6$ (*) $P < 0.05$

La CORT administrada tanto en mla o PMR (Figuras 5b y 5c) no cambió la distancia recorrida (DT) en comparación con sus respectivos controles ($F_{1,12} = 0.03$, $P > 0,05$ y $F_{1,10} = 0.07$, $P > 0.05$), también hubo diferencias significativas de la repetición ($F_{6,72} = 7.41$, $P < 0,01$ y $F_{6,60} = 4.00$, $P < 0,01$) así como en el tratamiento, pero su interacción no alcanzó significancia estadística ($F_{6,72} = 0,82$, $P > 0,05$ y $F_{6,60} = 1.60$, $P > 0.05$). Debido a que el DT se refiere a distancia

recorrida, se obtuvieron resultados similares cuando se analizó el tiempo de ambulación (TA).

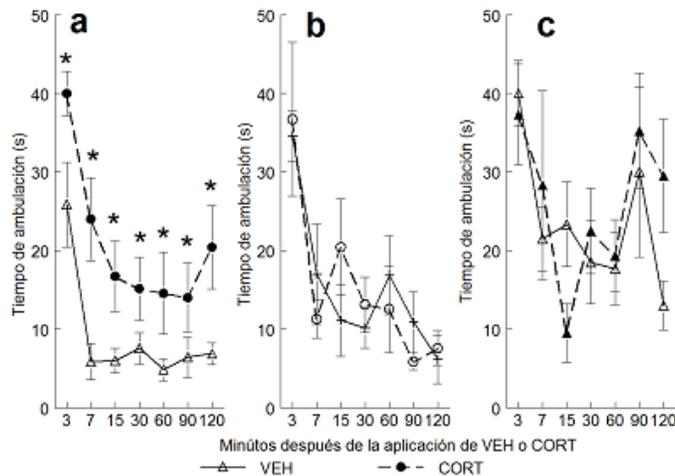


Figura 6. Efecto de la microinyección de la CORT y VEH sobre tiempo de ambulación (TA), en las siguientes áreas del puente: a) PnO b) mla c) PMR. Los valores son el promedio de \pm error estándar. $n = 6$. (*) $P < 0.05$

La CORT aumentó el tiempo de ambulación (TA) cuando se micro inyectó en PnO (Figura 5), $F_{1,12} = 12.38$, $P < 0,01$), La CORT no tuvo efecto ni en mal (Figura 5b), ni en PMR (Figura 5c). Sin embargo, cambia la TA en comparación con los controles tratados con VEH ($F_{1,12} = 0.00$, $P > 0,05$ y $F_{1,10} = 0.06$, $P > 0.05$). Como se vio en el DT, para TA, la ANOVA muestra que existen diferencias estadísticas en la repetición en todas las regiones probadas (PnO, $F_{6,72} = 12,55$, $P < 0,01$; mla, $F_{6,72} = 8.12$, $P < 0,01$; y PMR, $F_{6,60} = 3.91$, $P < 0,01$). Por el contrario, todas las interacciones no fueron estadísticamente significativas (PnO, $F_{6,72} = 0.81$, $P > 0,05$; mla, $F_{6,72} = 0.91$, $P > 0,05$; y PMR, $F_{6,60} = 1.71$, $P > 0.05$). En la figura 6 se muestra la cantidad de tiempo dedicado por las ratas en el tiempo de movimientos

no ambulatorias (TNA) que Incluye ajustes posturales y de conductas estereotipadas (aseo, acicalamiento, oler, etc.)

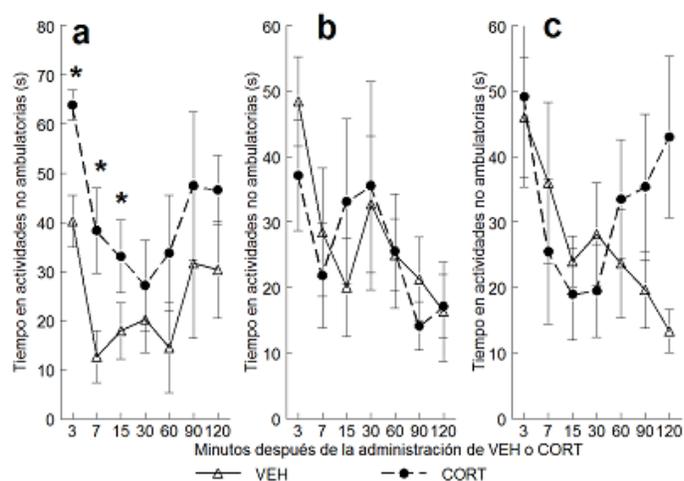


Figura 7. Efecto de la microinyección de la CORT y VEH sobre la actividad no ambulatorio (TNA), en las siguientes áreas del puente: a) PnO b) mla c) PMR. Los valores son el promedio de $n = 6 \pm$ error estándar. (*) $P < 0.05$

El ANOVA muestra diferencias significativas provocadas por la administración de CORT en el PnO ($F_{1,12} = 5.24$, $P < 0.05$), se observó un aumento de la TNA a lo largo de los 120 minutos con respecto a las ratas control (Figura 7a), por el contrario, las figuras 7b y 7c muestran que la CORT fue incapaz de modificar la TNA en las otras dos regiones pontinas (mla, $F_{1,12} = 0.10$, $P > 0,05$ y PMR, $F_{1,10} = 0.09$, $P > 0.05$). Además, hubo diferencias estadísticas debida a la repetición en todas las regiones probadas (PnO, $F_{6,72} = 4.22$, $P < 0,01$; mla, $F_{6,72} = 3.23$, $P < 0,01$; y PMR, $F_{6,60} = 2.87$, $P < 0.05$). El ANOVA también reveló una interacción significativa entre los factores de tratamiento y repetición en ratas micro inyectadas en PMR ($F_{6,60} = 2.40$, $P < 0.05$), sin embargo, la prueba SNK no

Con formato: Centrado

mostró diferencias entre los grupos micro inyectados con CORT y VEH. En las otras dos regiones, no se encontraron interacciones significativas entre los factores (PnO, $F_{6,72} = 0.48$, $P > 0,05$ y mla, $F_{6,72} = 0.74$, $P > 0.05$).

La figura 8 muestra el tiempo empleado por las ratas en reposo (TR), la microinyección CORT en PnO disminuyó el TR en comparación con los animales administrados con VEH en el mismo núcleo (Figura 8a), la ANOVA reveló un efecto principal debidas a los factores de tratamiento y repetición ($F_{1,12} = 6.68$, $P < 0,05$ y $F_{6,72} = 7.28$, $P < 0,01$), y una falta de significancia debida a la interacción ($F_{6,72} = 0.57$, $P > 0.05$). La CORT en mla o PMR no modificó el TR en comparación con sus respectivos controles (Figuras 8b y 8c).

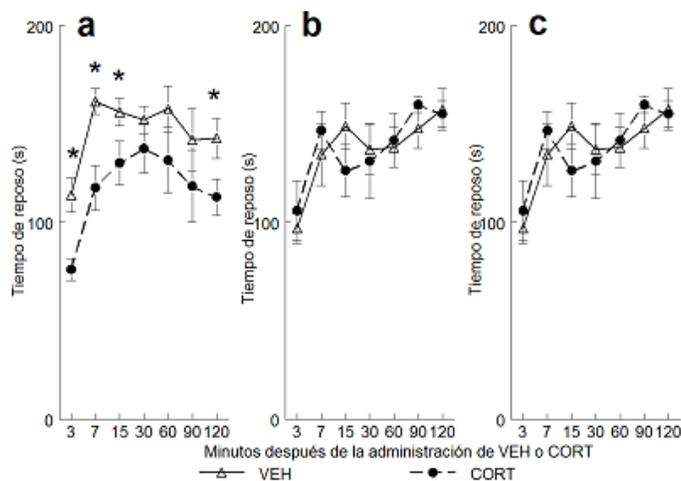


Figura 8. Efecto de la COR sobre el tiempo de reposo después de inyectarla en las siguientes áreas del cerebro a) PnO b) mla c) PMR. Los valores son el promedio de \pm error estándar. $n = 6$. (*) $P < 0.05$

El ANOVA no mostró diferencias significativas debidas al tratamiento (mla, $F_{1,12} = 0.00$, $P > 0,05$ y PMR, $F_{1,10} = 0.36$, $P > 0.05$), por el contrario hubo

diferencias estadísticamente significativas en el factor de repetición en las tres regiones (PNO, $F_{6,72} = 7.28$, $P < 0,01$; mla, $F_{6,72} = 5.19$, $P < 0,01$; y PMR, $F_{6,60} = 4.70$, $P < 0,01$). Sin embargo, todas las interacciones no fueron estadísticamente significativas (PnO, $F_{6,72} = 0.57$, $P > 0,05$; mla, $F_{6,72} = 0.65$, $P > 0,05$; y PMR, $F_{6,60} = 1.59$, $P > 0.05$).

Por último, los datos de la dosis más baja de CORT (0,01 $\mu\text{g}/1.0 \mu\text{L}$) en PnO sobre la actividad motora no se muestran porque eran similares a los controles intra-PnO VEH. Además, no se detectaron diferencias en los trazados de la ruta que siguieron las ratas durante las pruebas de campo abierto

5.3 Antagonistas a MR y GR en PnO

Para comprobar si la activación del comportamiento causado por la microinyección de CORT en PnO estaba mediada por los receptores de corticosteroides, se realizaron tratamientos previos en PnO con la ESPIRO (antagonista MR) o MIFEP (antagonista de GR), antes de la administración intra-PnO de CORT. Los resultados en todas las medidas de comportamiento en este experimento tuvieron patrones temporales similares como los reportados en los experimentos anteriores (5.2), por otra parte, el análisis de varianza no mostró una interacción significativa entre los factores de tratamiento y repetición, por lo que los siguientes resultados serán presentados como la media de los comportamientos medidos a lo largo de los 120 minutos de la prueba. Como se mostró en el experimento anterior (5.2), aquí también la micro inyección de CORT en PnO aumentó la duración de la respuesta de inmovilidad (Figura 9) el análisis de varianza mostró un efecto significativo debido al tratamiento ($F_{5,30} = 6.96$, $P <$

0,01), la prueba SNK reveló que el incremento en la duración del RI causado por CORT fue impedido por la administración de los antagonistas ESPIRO y MIFEP en PnO, sin embargo, estos antagonistas no cambiaron la duración del RI cuando fueron administrados solos (Figura 9). El ANOVA reveló un efecto significativo debido a la repetición ($F_{6, 180} = 3.20, P < 0,01$), sin cambios significativos en la interacción de los factores ($F_{30, 180} = 0.82, P > 0.05$).

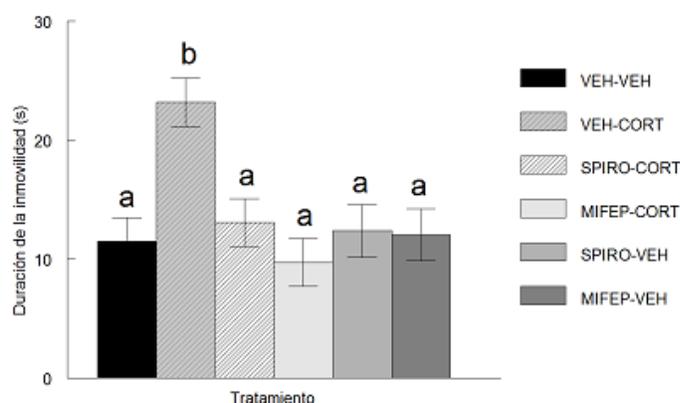


Figura 9. Efecto del bloqueo de receptores para CORT en PnO sobre la respuesta de inmovilidad. Los valores son el promedio de \pm error estándar. $n = 6$. Las letras diferentes indican diferencia significativa $P < 0.05$

La figura 10a y b, muestra el efecto de la CORT y sus antagonistas en PnO sobre la locomoción, en DT y TA. El análisis de varianza (DT: $F_{5, 30} = 5.42, P < 0,01$; TA: $F_{5, 30} = 4.65, P < 0,01$) y la pruebas posterior con SNK mostraron que el incremento de la actividad motora causado por CORT fue prevenido por el pre tratamiento con ambos antagonistas (SPIRO y MIFEP), y como en el comportamiento de IR, ESPIRO o MIFEP no fueron capaces de modificar la locomoción de ratas tratadas con en el VEH (Figura 10). El ANOVA reveló un efecto debido a la repetición (DT: $F_{6, 180} = 9.27, P < 0,01$; TA: $F_{6, 180} = 8.92, P <$

Con formato: Centrado

0,01) sin significancia debida a las interacciones (DT: $F_{30, 180} = 1.02, P_{>} 0.05$, TA: $F_{30, 180} = 1.06, P_{>} 0.05$).

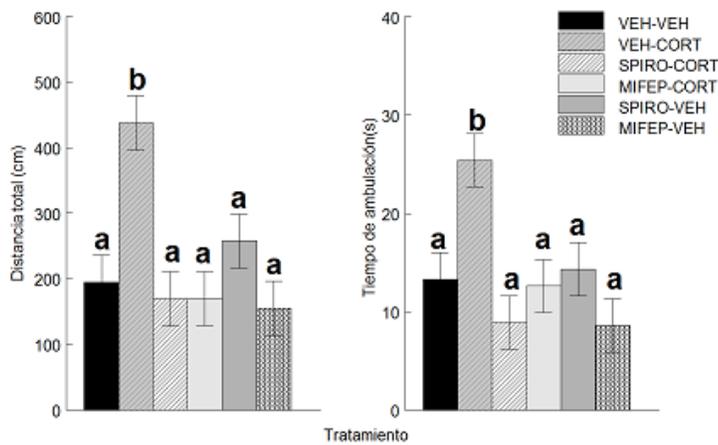


Figura 10. Efecto del bloqueo de receptores para CORT en el PnO sobre: a) Distancia recorrida y b) Tiempo de ambulaci3n. Los valores son el promedio de \pm error estandar. Las letras diferentes indican una diferencia significativa. $n = 6, P < 0.05$

Por otro lado, cuando se evalu3 la cantidad de tiempo dedicado por las ratas en los movimientos no ambulatorios (Figura 11a), la CORT administrada en PnO no fue capaz de aumentar la TNA respecto a los animales administrados con VEH, aunque el an3lisis de varianza mostr3 una diferencia estadística significativa por efecto del tratamiento ($F_{5, 30} = 2.88, P < 0.05$), la prueba SNK justamente revel3 una diferencia significativa entre los grupos VEH-CORT y MIFEP-VEH, las ratas pre tratadas con MIFEP tuvieron una reducci3n en TNA en comparaci3n con

Con formato: Justificado, Sangría:
Primera línea: 1.25 cm, Interlineado:
Doble

Con formato: Centrado

las ratas tratadas con CORT. No hubo diferencias significativas debidas a la repetición ($F_{6,180} = 1.70, P > 0,05$) Por último, en el comportamiento en reposo (Figura 11b), los resultados fueron similares a los de TNA, el ANOVA mostró diferencias significativas debido al tratamiento ($F_{5, 30} = 3.16, P < 0.05$), pero la prueba SNK sólo detectó un incremento significativo en TR en el grupo MIFEP-VEH comparado con el grupo VEH-CORT. Además, hubo un efecto significativo debido a la repetición ($F_{6,180} = 2.21, P < 0,01$), sin interacción significativa entre los factores ($F_{30,180} = 0.86, P > 0.05$).

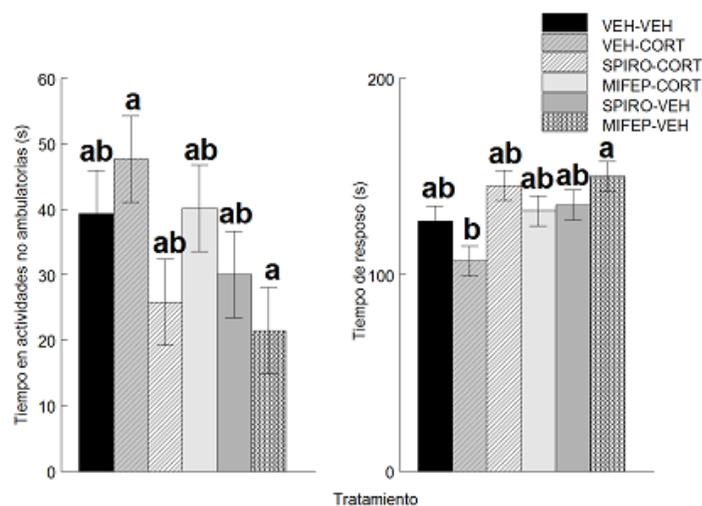


Figura 11. Efecto del bloqueo de receptores para CORT en el PnO sobre: a) Tiempo de movimientos no ambulatorios b) Tiempo de reposo. Los valores son el promedio de \pm error estándar. Las letras diferentes indican una diferencia significativa. $n = 6, P < 0.05$.

Con formato: Centrado

Experimento II

La administración repetida de CORT afecto principalmente el peso corporal de la rata, consumo de alimento y agua y la formación de RL detectado mediante EPR en el cerebro, pero sin cambios en hígado y músculo. Los resultados obtenidos en las pruebas de conducta indica un incremento en la ansiedad y la depresión, resultados que concuerdan con la reducción en los valores de actividad locomotora cuando se administra de forma repetida la CORT por 12 días.

5.4 Peso corporal

El valor del peso corporal de la rata no se modificó debido al tratamiento, el análisis utilizando la prueba de ANOVA de dos vías para medidas repetidas no arrojó diferencias significativas $F_{1,42} = 1.237$, $P > 0.05$ la misma prueba demuestra que se presentan cambios significativos dependiendo del día $F_{7,42} = 99.274$, $P < 0.05$ y en la interacción día por tratamiento $F_{7,42} = 3.28$, $P < 0.05$ (Figura 12).

La prueba post hoc SNK demuestra un incremento en el valor del peso corporal a medida que pasan los días de tratamiento en los dos grupos, siendo mayor el incremento en las ratas que se inyectaron con VEH, en la misma prueba se encontró una diferencia significativa en el día 12 de tratamiento en la que se demuestra una disminución en el peso de las ratas.

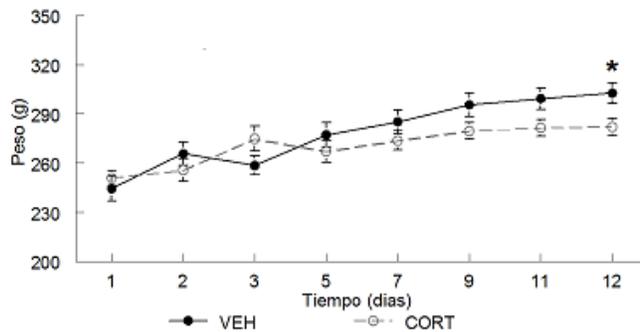
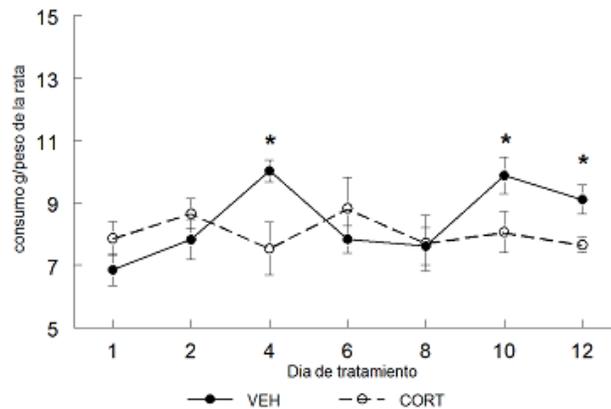


Figura 12. Efecto de la administración repetida de CORT sobre peso corporal de las ratas. Los valores son el promedio de \pm error estándar. $n = 6$. (*) $P < 0.05$.

5.5 Consumo de alimento

La diferencia del consumo de alimento entre los tratamientos no fue significativa utilizando la prueba de ANOVA de dos vías para medidas repetidas $F_{1,30} = 0.954$, $P > 0.05$. En cambio, a lo largo del tratamiento por día sí arrojó diferencias significativas $F_{6,30} = 4.038$, $P < 0.05$. La interacción entre los factores fue significativa $F_{6,30} = 4.038$, $P < 0.05$. El análisis de comparación múltiples SKN indica que en los días 4 y 10 hubo diferencias significativas entre los grupos. La comparación del consumo de alimento entre los sujetos con CORT no se modificó a lo largo del tratamiento pero entre los que se trataron con VEH aumentó y la diferencia es significativa, lo que indica que las ratas con CORT consumieron la misma cantidad de alimento a lo largo del experimento quedándose por debajo del valor de consumo de las VEH, que aumentaron su consumo (Figura 13).



Con formato: Centrado

Figura 13. Efecto de la administración repetida de CORT sobre el consumo de alimento de las ratas. Los valores son el promedio de \pm error estándar $n = 6$. (*) $p < 0.05$

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Fuente: 10 pto, Español (México)

Con formato: Español (México)

5.6 Hematocrito y Hemoglobina.

La ANOVA de dos vías no detectó diferencias significativas entre las medias del hematocrito de los tratamientos $F_{1,14} = 0.00830$, $P > 0.05$ pero sí se detectan diferencias significativas dependiendo del día $F_{1,14} = 23.690$ $P < 0.05$., la interacción no presentó diferencia significativa $F_{1,14} = 0.302$ $P < 0.05$. La prueba post hoc para el factor día de tratamiento demuestra una disminución significativas entre los días cero y doce en el grupo tratado con CORT respecto al VEH. (Tabla 1).

La ANOVA de dos vías no demuestra diferencia significativa entre los grupos para la hemoglobina en el factor tratamiento $F_{1,20} = 0.692$ $P > 0.05$, día de tratamiento $F_{1,20} = 1.74$, $P > 0.05$ o tratamiento respecto al día $F_{1,20} = 1.41$, $P > 0.05$. (Tabla 1)

5.7 Glucosa

La ANOVA de dos vías no demuestra diferencia significativa entre los grupos para la glucosa en el factor tratamiento $F_{1,18} = 0.976$, $P > 0.05$, o día de tratamiento $F_{1,18} = 1.45$, $P > 0.05$ o tratamiento respecto al día $F_{1,18} = 0.557$, $P > 0.05$ (Tabla 1).

Tabla 1

Concentración de glucosa, hemoglobina, y hematocrito de la rata antes del inicio del tratamiento y a los 12 días.

	Antes del 12 Días		12 Días
	Basal	Vehículo	CORT
Glucosa mg/dL	59.90 ± 2.19	64.1 ± 4.3	65.0 ± 3.9
Hemoglobina g/dL	13.31 ± 0.69	15.1 ± 1.1	13.5 ± 1.4
Hematocrito (%)	57.42 ± 2.01	45.6 ± 2.43	43.0 ± 2.22*

Los valores son el promedio de ± error estándar. n = 6. (*) $p < 0.05$

5.8 Peso de órganos

La comparación de las medias de los valores del peso de los órganos de las ratas VEH contra las de CORT no arrojó diferencias significativas. Obteniéndose los siguientes resultados en las pruebas de t de Student para cada uno de los tejidos: cerebro ($T_{(12)} = -0.984$, $P > 0.05$), músculo esquelético (gastrocnemio) ($T_{(11)} = -0.483$, $P > 0.05$), hígado ($T_{(12)} = -1.218$, $P > 0.05$) y bazo ($T_{(11)} = 0.216$, $P > 0.05$) (Tabla 2).

El único órgano donde hubo una disminución significativa fue en las glándulas adrenales del grupo administrado con CORT, comparado con el VEH ($T_{(12)} = -3.520$, $P < 0.05$).

Con formato: Sangría: Primera línea: 1.25 cm

Con formato: Subíndice

Tabla 2

Porcentaje de peso de hígado, cerebro, músculo, bazo, corazón y glándulas adrenales a los 12 días de tratamiento con CORT.

Tejido	Por ciento de peso de la rata (g de tejido/100g de peso corporal)	
	Vehículo	Corticosterona
Hígado	4.915 ± 0.435	4.749 ± 0.654
Cerebro	0.661 ± 0.039	0.638 ± 0.0854
Músculo	0.547 ± 0.0621	0.508 ± 0.620
Bazo	0.535 ± 0.370	0.581 ± 0.358
Corazón	0.424 ± 0.014	0.423 ± 0.110
Adrenales	0.017 ± 0.00	0.011 ± 0.001*

Los valores son el promedio de ± error estándar n = 6. (*) p < 0.05

Con formato: Centrado

5.9 Sistema oxidante y antioxidante.

La comparación de las medias de la concentración de TBARS entre el grupo administrado con CORT y el VEH no arrojó diferencias significativas en ninguno de los tejidos que se evaluaron. Los valores de las pruebas de T para las comparaciones de los tejidos fueron las siguientes: hígado ($T_6 = 0.306$; $P > 0.05$), músculo ($T_9 = 0.601$, $P > 0.05$), cerebro ($T_9 = 0.648$, $P > 0.05$) (Tabla 3).

Con formato: Interlineado: sencillo

Tabla 3

TBARS en hígado, cerebro, músculo y sangre. En sangre se midió además TBARS, TAS y SOD en ratas al día 12 de tratamiento con CORT.

Ensayo		Vehículo	CORT
Sangre	TBARS mM de MDA/mg de prot.	0.021±0.003	0.010±0.0018
Hígado	TBARS mM de MDA/mg de prot.	0.6935±0.08	0.8456±0.12
Cerebro	TBARS mM de MDA/mg de prot.	3.153±0,31	3.45±0.05
Músculo	TBARS mM de MDA/mg de prot.	0.838±0.25	1.016±0.038

Los valores que se muestran son las medias ± SME. (*) p < 0.05.

Con formato: Centrado

Con formato: Sangría: Primera línea: 1.25 cm

Con formato: Sangría: Primera línea: 0 cm

El análisis de las medias de los valores de antioxidantes totales TAS, utilizando la prueba de ANOVA de dos vía, reflejó una diferencia significativa entre

las medias de los grupos $F_{1,35} = 12.38$, $P < 0.05$ en el factor día $F_{3,34} = 11.48$, $P < 0.05$ y en la interacción entre los tratamientos $F_{3,35} = 6.82$, $P < 0.05$. La prueba de comparaciones múltiples SNK demostró diferencias significativas entre los grupos a los 4 y 12 días (Figura 14a).

Los ANOVA de dos vías de la comparación de las medias de la actividad de la SOD en la sangre de las ratas inyectadas de forma repetitiva con CORT demuestra que no hay diferencia significativa debida al tratamiento $F_{1,34} = 0.691$, $P > 0.05$ el análisis respecto al factor día sí reflejó diferencias significativas $F_{1,34} = 4.849$, $P < 0.05$ y no se encontró interacción entre el tratamiento y el día $F_{3,34} = 1.967$, $P > 0.05$. El análisis post hoc reflejó una diferencia significativa entre los grupos a los 8 días (Figura 14b).

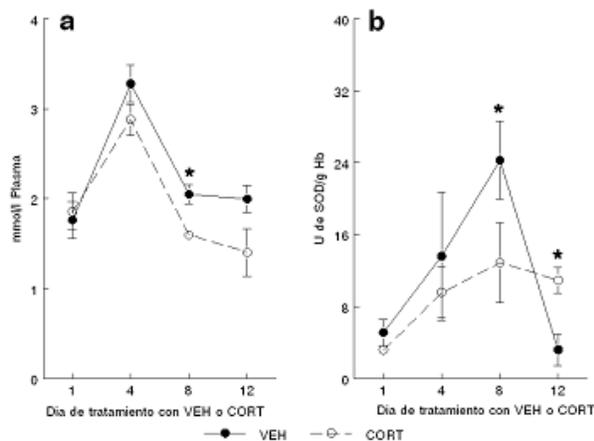


Figura 14. Efecto de la administración repetida de CORT sobre: a) Antioxidantes totales (TAS) medidos en la sangre b) Actividad de la SOD en eritrocitos. Los valores son el promedio de $n = 6 \pm$ error estándar. (*) $P < 0.05$.

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Fuente: 10 pto

La prueba de ANOVA de dos vías no encontró diferencia significativas entre los tratamientos entre las medias de TBARS en sangre de los grupos $F_{1,39} = 0.057$, $P > 0.05$ pero si en el factor día $F_{3,39} = 5.54$, $P < 0.05$, no se encontró interacción

entre tratamiento y día $F_{3, 39} = 0.18$, $P > 0.05$. El análisis post hoc sin embargo no demuestra variaciones significativas entre los grupos pero si diferencias significativas en los valores del VEH comparando el día 12 con el 1 y el 8 (Figura 15)

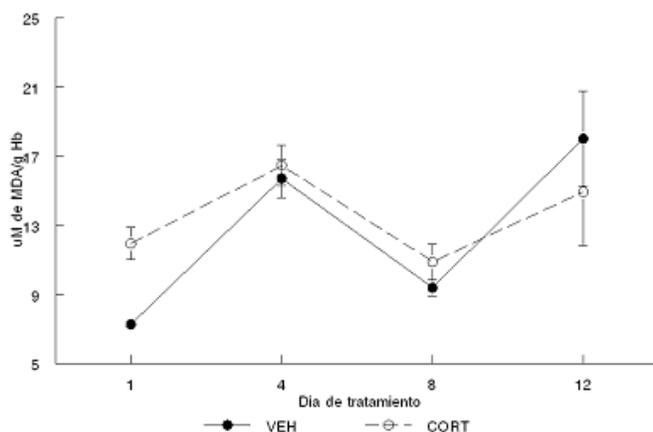


Figura 15. Efecto de la administración repetida de CORT sobre la formación de MDA medido en muestras de sangre. Los valores son el promedio de \pm error estándar $n = 6$. (*) $P < 0.05$.

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Sangría: Primera línea: 0 cm

5.2.8 RPE

Los registros de RPE se realizaron en una ventana amplia para poder observar las interacciones electrónicas con núcleos atómicos vecinos y poder describir además de la actividad paramagnética de los electrones, sus interacciones.

El factor espectroscópico de resonancia (g) indica el valor de resonancia de los electrones atómicos y el valor de $g = 2.0037$ es un valor característico de la presencia de radicales libres en los tejidos.

Los espectro de resonancia paramagnética electrónica del hígado muestra la presencia de radicales libres en el valor de $g = 2.01$ y alrededor de este valor se demuestra la presencia de otros centros paramagnéticos interactuando a valores de g inferiores y superiores. El número de interacciones aumentó a decir por el número de valores de g que se calcularon en las ratas con CORT.

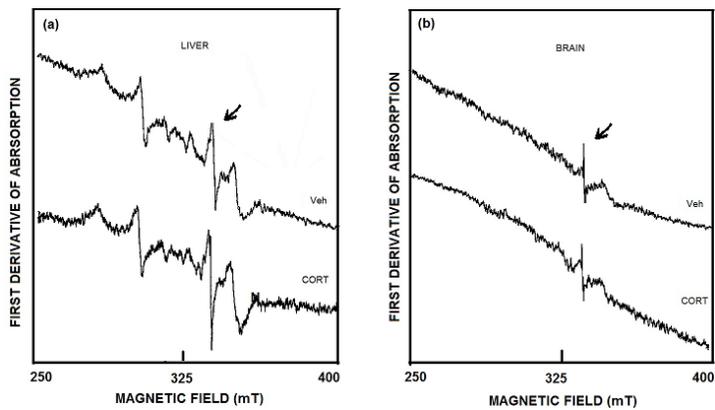
Con formato: Fuente: Negrita

Con formato: Fuente: Negrita

En todos los espectros del análisis de hígado se detectó la presencia de radicales libres, pero se presume que es una producción metabólica basal de la célula y el nivel de radicales libres que se registró después de la inyección repetida de CORT por 12 días no se reflejó en una diferencia significativa respecto a su control.

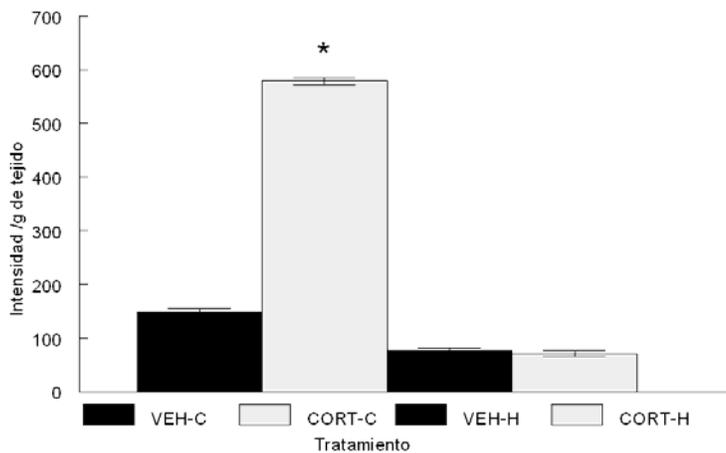
Con formato: Sangría: Primera línea: 1.25 cm, Interlineado: Doble

El análisis de varianza de las medias de la intensidad/ g peso de tejido de las muestras de cerebro con valor de $g = 2.007$ utilizando el ANOVA de dos vías, demuestra diferencia significativa debida al tratamiento $F_{1,3} = 874,822$, $P < 0.05$. El análisis de varianza de las medias de la intensidad/ g peso de tejido de las muestras de hígado con valor de $g = 2.007$ utilizando ANOVA de dos vías, no se encontró diferencia significativa debida al tratamiento $F_{1,3} = 0.593$, $P > 0.05$ (figura 17).



Con formato: Centrado

Figura 16. Espectro de EPR de hígado y cerebro a temperatura ambiente, en banda X, a los 12 días de tratamiento con corticosterona. A pesar de las diferencias en el área bajo la curva entre el vehículo y corticosterona, las diferencias no fueron significativas en hígado.



Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, Español (México), No revisar la ortografía ni la gramática

Con formato: Centrado

Figura 17. Efecto de la administración repetida de CORT sobre la formación de RL en muestras de hígado y cerebro. La intensidad/g de tejido corresponde a la media de las áreas bajo la curva de los espectros de cada grupo con valor de $g = 2.00$. Los valores son el promedio de \pm error estándar. C = cerebro y H = hígado. $n = 4$ (*) $P < 0.05$.

Con formato: Fuente: 10 pto

Tabla 4. Número relativo de radicales libres en hígado y cerebro de ratas a los 12 días de estimulación con VEH o CORT.

Hígado Banda X

PICO	$\Delta B(g)$ mT	B(g) mT	g	Inte /g tejido	TRATAMIENTO
2	0.18±0.00 0.20±0.02	323.8±0.00 323.7±0.77	2.0063±0.000 2.0066±0.000	76.58±4.54 70.69±5.52	VEH CORT

Con formato: Fuente: Negrita

Con formato: Centrado

Con formato: Centrado

Cerebro Banda X					
PICO	$\Delta B(g)$ mT	B(g) mT	g	Inte /g tejido	TRATAMIENTO
2	0.32.5±0.02	323.00±0.0	2.0093±0.000	182.36±6.42	VEH
2	0.412±0.012	323.05 ±0.02	2.010±0.000	626.74±22.42	CORT
3	0.475±0.025	323.5±0.168	2.0068±0.000	148.72±6.47	VEH
3	0.5±0.0	323.62±0.025	2.0069±0.000	578.84±6.67	CORT

Con formato: Fuente: Negrita

Los valores que se muestran son las medias, con n = 4 para cada grupo. $\Delta B(g)$ = ancho de línea. B (g) = valor del campo magnético. g = factor espectroscópico de resonancia. Inte /g tejido = número relativo de radicales libres por gramo de tejido.

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Español (México)

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Negrita, Español (México)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Español (México)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Negrita, Español (México)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Español (México)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Español (México)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto

Con formato: Justificado

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Fuente: 10 pto, Negrita

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Español (México)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pto, Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Sangría: Primera línea: 0 cm

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

5.2.9 Respuesta de inmovilidad de la rata a los 12 días

En la respuesta de inmovilidad por pinzamiento del cuello (RI), la ANOVA de medidas repetidas no arrojó diferencia significativa entre los grupos ($F_{1,60} = 0.383$, $P > 0.05$). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el tiempo (minutos después de la aplicación de VEH o CORT) en el que se llevó a cabo la medición respecto al tratamiento ($F_{6, 60} = 0.264$, $P > 0.05$). La interacción entre los factores no resultó ser significativa ($F_{6, 60} = 1.315$, $P > 0.05$ (Figura 18).

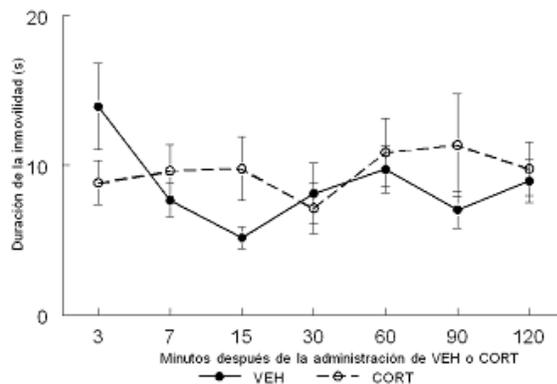


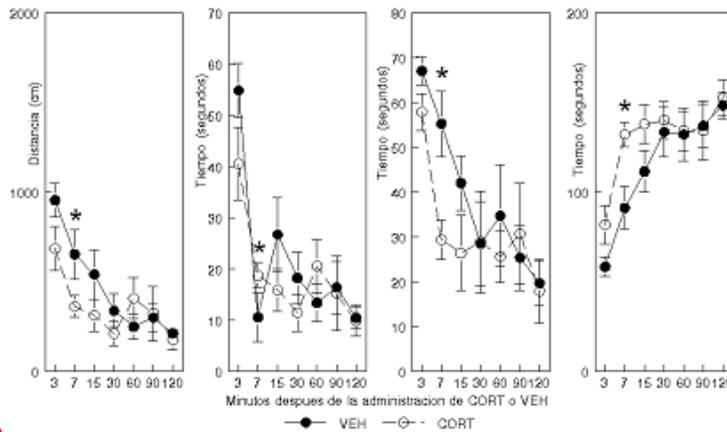
Figura 18. Respuesta de inmovilidad de la rata. Efecto de la administración sistémica repetida de CORT y VEH por 12 días, sobre la RI. Los valores son el promedio de \pm error estándar. $n = 6$. (*) $P < 0.05$.

Con formato: Fuente: 10 pto

Con formato: Sangría: Primera línea: 0 cm

5.2.10 Actividad locomotora el día 12

La figura 19 muestra la media de la DT de las ratas VEH y con CORT. No hubo diferencia estadística debida al tratamiento, el resultado de la prueba de ANOVA de dos vías fueron ($F_{1,58} = 1.033$, $P > 0.33$), la interacción que hubo debida al tiempo fue significativa ($F_{6,58} = 14.988$, $P < 0.001$). La comparación post hoc SNK muestra una distancia menor recorrida por la rata administrada con CORT a los 7 minutos. Resultados similares no significativos debidos al tratamiento se encontraron en la medición del tiempo de ambulación movimientos no ambulatorios y tiempo de reposo. Figura 19 a, 19b, 19c y 19d, con valores de ANOVA ($F_{1,58} = 1.280$, $P > 0.284$), ($F_{1,58} = 1.163$, $P > 0.306$), ($F_{1,58} = 1.596$, $P > 0.235$) respectivamente y con una significancia debida a los tiempos de medición) en (b) ($F_{1,58} = 18.813$, $P < 0.001$) c) ($F_{1,58} = 9.806$, $P < 0.001$) d) ($F_{1,58} = 17.143$, $P < 0.001$) respectivamente. La interacción entre los factores fue como sigue a) ($F_{6,58} = 2.526$, $P < 0.001$), b) ($F_{6,58} = 2.06$, $P > 0.05$), c) ($F_{6,58} = 1.61$, $P > 0.05$), d) ($F_{6,58} = 1.753$, $P < 0.05$), respectivamente. La comparación post hoc muestra que las ratas administradas con CORT tienen mayor tiempo de ambulación, menor tiempo no ambulatorio, y mayor tiempo de reposo.



Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, Español (México), No revisar la ortografía ni la gramática

Con formato: Centrado

Figura 19. Actividad locomotora de la rata. Efecto de la administración sistémica repetida de CORT y VEH sobre a) distancia recorrida (DT), b) tiempo de ambulaci3n (TA), c) tiempo de actividades no ambulatorias d) tiempo de reposo. Los valores son el promedio de $n = 6 \pm$ error estandar. (*) $P < 0.05$.

5.2.12 Prueba de ansiedad en el laberinto elevado

El tiempo de permanencia en el brazo abierto disminuy3 de manera significativa en las ratas inyectadas con CORT a los 12 d3as comparadas con sus controles ($T_{14} = 2.782$, $P < 0.05$) y el n3mero de entradas a el brazo abierto no fue significativamente diferente entre los grupos ($T_{14} = -0.326$, $P > 0.05$).

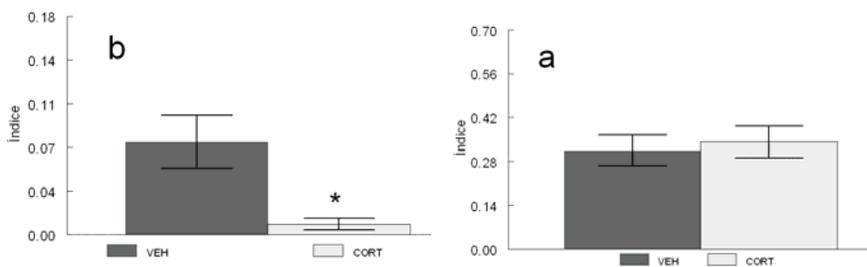
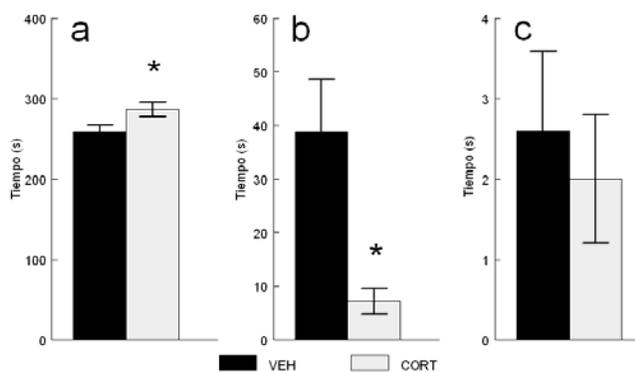


Figura 20. La media (\pm S.E.M) del 3ndice de tiempo de permanencia y n3mero de entradas en el brazo abierto, las ratas se colocaron en el centro del laberinto y la prueba dur3 5 minutos. Las ratas que se sometieron al experimento hab3an sido tratadas con VEH o CORT 12 d3as. a) Tiempo de

permanencia en brazo abierto b) número de entradas al brazo abierto. Índice = $a/(a + c)$. Donde a = brazo abierto (tiempo o N° de entradas) c = brazo cerrado (tiempo o N° de entradas).

5.2.13 Prueba de nado forzado

En la prueba de nado forzado, al medir el tiempo de inactividad de las ratas tratadas con CORT demuestran que fue mayor, comparada con las ratas inyectadas con VEH. ($T_{(11)} = -2.316$; $P < 0.05$) (Figura 21a). La comparación del tiempo de nado demostró una disminución de este en las ratas tratadas con CORT ($T_{(10)} = -3.219$; $P < 0.05$) (Figura 21b). Finalmente en el tiempo de escalamiento no hubo diferencia entre los grupos ($T_{(12)} = -0.307$; $P < 0.05$) (Figura 21c).



Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, Español (México), No revisar la ortografía ni la gramática

Figura 21. La media (\pm SEM) del tiempo de: a) reposo b) nado c) escalamiento de ratas administradas con VEH o CORT por 12 días. Los efectos fueron significativos. Uno, las ratas inyectadas con CORT están más tiempo inactivas que las VEH (*) ($T_{(11)} = -2.316$; $P < 0.05$). Las ratas administradas con CORT están menos tiempo nadando comparado con las VEH).

VI DISCUSIÓN

Experimento I

Aunque los mecanismos neuronales subyacentes exactos de la respuesta de inmovilidad (RI) no están claros, probablemente involucra la activación de varios sistemas. Una parte de estos mecanismos incluye vías motoras inhibitorias descendentes de la formación reticular bulbar y pontina (MPRF) a las motoneuronas espinales (Klemm, 1989, 2001). Nuestros resultados indican que entre las estructuras de MPRF estudiadas, el núcleo pontis oralis (PnO) parece estar modulando el RI, porque la CORT administrada dentro del núcleo incrementa la duración del RI. Por otra parte, este aumento en el RI parece estar mediado por ambos tipos de receptores de corticosteroides ya que el pretratamiento en PnO con antagonistas MR o GR bloquea los efectos de la CORT. Nuestros resultados también mostraron que el área del lemnisco medial (mla) y el rafe paramedial

(PMR) no parecen estar participando en la modulación de CORT de la RI. La actividad locomotora de las ratas también se incrementó por la microinyección de CORT sólo en PnO, y este efecto también fue bloqueado por los antagonistas de MR o GR.

El incremento en la duración de la respuesta de inmovilidad causada por estímulos estresantes ha sido descrito en varias especies (Carli y cols., 1981; Faure y cols., 2003; Henning, 1978; Miranda y cols., 2006; Wilson y Kaspar, 1994; Zamudio y cols., 2009). Los estímulos estresantes activan el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA), concluyendo en la secreción de glucocorticoides (CORT en roedores) de la corteza suprarrenal en el sistema circulatorio, los glucocorticoides pasan fácilmente la barrera hematoencefálica y se unen a los receptores de esteroides. En consecuencia, los glucocorticoides ejercen efectos sobre el cerebro para regular algunas conductas, incluyendo la actividad locomotora, la respuesta de miedo, la memoria y el aprendizaje (De Quervain y cols., 1998; Skórzewska y cols., 2006; Sandi y cols., 1996; Tenk y cols., 2006). Recientemente, se ha informado que la inyección sistémica de CORT aumenta la duración de la RI (Zamudio y cols., 2009). Así, la CORT liberado por estímulos estresantes puede alterar la actividad neuronal de algunas áreas cerebrales que controlan la RI, por ejemplo, la amígdala, MPRF y el hipocampo. En este sentido, se ha demostrado que los glucocorticoides modifican la excitabilidad neuronal de la amígdala (Duvarci y Paré, 2007), el hipocampo (Joëls y Dee Kloet, 1991), y la formación reticular pontina (Dubrovsky y cols., 1985). Nuestros datos apoyan la idea de que, en situaciones de estrés, la PnO (como parte de la MPRF) es activada por CORT para ampliar la duración de la RI. Esto podría explicar en

parte, el aumento de la conducta de inmovilidad observada en animales estresados.

A nuestro entender, la PnO no ha sido relacionada directamente con el fenómeno del RI, sin embargo, en estudios electrofisiológicos en los conejos, la actividad neuronal de algunas regiones del MPRF (PnO incluido) mostró un incremento consistente durante el RI (Klemm, 2001). Se ha pensado que la formación reticular del tallo cerebral actúa como un sistema de alerta, por lo tanto, PnO podrían influir en RI de una manera no específica. El RI se ha asociado con el estado de alerta (Gallup Jr. y cols., 1980; Hatton y cols., 1975, Klemm, 2001.) y puede ser modulado por estructuras como la neocorteza y el sistema límbico (Klemm, 2001; Zamudio y cols., 2009). Durante el estado de alerta, estructuras como la amígdala y el hipocampo están activas y se ha reportado un papel modulador del RI para estas regiones límbicas (Davies y cols., 2002; Flores y cols., 2005; Leite-Panissi y Menescal-de Oliveira- de 2002, Leite-Panissi y cols., 2006; Woodruff y cols., 1975). Vertes (1982) informó que las células en el PnO descargan selectivamente durante la activación conductual y la alerta, y se ha descrito que las neuronas colinérgicas del PnO ventral activan neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus (Fenik y cols., 2005). Nuestra hipótesis es que la CORT en el PnO produce un estado de hiper alerta que a su vez facilita la iniciación y sostenimiento de la RI. Interesantemente, un ritmo theta del hipocampo se ha registrado durante la RI (Harper, 1971; Rakshit y Klemm, 1980) y se considera un correlato muy conocido del estado de alerta (Vertes, 1982). El ritmo theta del hipocampo también está presente en los movimientos oculares rápidos (REM) y se produce a través de la activación de las neuronas en la PnO

(Datta y Mac Lean, 2007). El PnO también juega un papel importante en el control de los estados de comportamiento de la vigilia y en el sueño REM (Xi y cols., 2004). Por el contrario, el núcleo del rafe medio (RM) está directamente implicada en la desincronización del EEG del hipocampo (Vertes, 1981; Vertes y Kocsis, 1997). Verdes y cols., (1999), mostraron que el núcleo de rafé medio (PMR incluido) proyecta ampliamente a estructuras del cerebro anterior, lo que sugiere una influencia moduladora significativa, especialmente en el septo-hipocampo en el control de la actividad EEG del hipocampo. Estos hallazgos podrían explicar, en nuestro estudio, la falta del efecto de la CORT sobre RI cuando se administró en PMR. Si las neuronas de PMR fueron activadas por CORT entonces, la interrupción del ritmo theta del hipocampo evitarían cualquier estado alerta en las ratas. En el caso de (mla), constituyen un haz de fibras compactas, por lo tanto, no esperábamos ningún efecto de la CORT debido a la ausencia de cuerpos neuronales en esta región (mla). La RI y el sueño REM comparten algunas características neurofisiológicas y de comportamiento: inmovilidad, electroencefalograma activado (EEG), el ritmo theta del hipocampo, y algunas respuestas autonómicas. Sin embargo, también hay algunas diferencias: durante el RI, no se observa el sueño MOR y atonía muscular. Por otra parte, el RI se activa y se mantiene por la estimulación sensorial estresante. En suma, el PnO podría ser considerado como un sustrato neuronal común para algunas expresiones del RI y el sueño MOR. En este sentido, se ha propuesto que algunos sistemas de tallo cerebral implicadas en la generación de sueño REM también se utilizan como mecanismos efectores en la RI (Overeem y cols., 2002). En este estudio, la CORT en PnO también aumenta las respuestas motoras

(conductas locomotoras y estereotipadas) en un entorno de campo abierto novedoso. En un informe anterior (Marin y cols., 2007) se mostró un incremento tanto en los niveles plasmáticos de CORT como en la actividad locomotora de ratones sometidos a un ambiente nuevo. Por otro lado, el bloqueo agudo de la secreción de CORT por metirapone redujo la actividad locomotora en un pasillo circular (Marinelli y cols., 1997). Estas observaciones están de acuerdo con varios informes anteriores, donde la administración sistémica de CORT aumentó la respuesta motora a la novedad (Sandi y cols., 1996; Skórzewska y cols., 2006; Tenk y cols., 2006). En este trabajo, parte de los efectos de la CORT sobre la actividad motora en los animales, también puede explicarse por el estado de hiper alerta causada por la CORT en PnO. La administración de CORT en PnO aumentó tanto la RI como la motilidad en respuesta a la novedad, dos comportamientos aparentemente opuesta. Esto puede sonar paradójico, pero la RI se considera una "respuesta de inmovilidad activa" (Klemm, 1989). No es un estado de parálisis flácida con pérdida del tono muscular. En cambio, durante el RI el tono muscular se conserva para mantener posturas relativamente incómodas, y hay claros signos de vigilancia (Gallup Jr, 1974; Klemm, 2001). Por lo tanto, en condiciones de hiper alerta, los animales pueden responder con la inmovilidad o hiper motilidad dependiendo de la estimulación sensorial específica de que están recibiendo. En este sentido, dentro de la cascada de respuestas defensivas, RI es considerado como el último recurso para sobrevivir. En respuesta a la creciente proximidad de un depredador, la respuesta inicial de congelación de la presa es seguido por huida, cuando la fuga no es posible, la presa se pondrá en contacto con el depredador se inicia la lucha, y el último paso

en esta secuencia es la RI (Bracha, 2004; Marx y cols., 2008). Por lo tanto, la secreción de CORT podría correlacionarse directamente con la proximidad al depredador. Desde esta perspectiva, nuestros resultados son consistentes con un papel modulador positivo de CORT en algunas de las respuestas defensivas e involucra a PnO como parte de esos mecanismos.

A pesar de la baja expresión de los receptores de glucocorticoides en la protuberancia (Aronsson y cols., 1988; Joëls y de Kloet, 1994), su presencia funcional se ha evidenciado en estudios electrofisiológicos: las neuronas en el tallo cerebral, en particular, en los núcleos del rafe (Avanzino y cols., 1984) o la región pontina (Dubrosky y cols., 1985) fueron excitadas por la aplicación local de CORT. Nuestros resultados conductuales además revelan la presencia de receptores a corticosteroides funcionales en el puente, concretamente en el PnO. La alta afinidad a MR se debió a la ocupación de los niveles basales de glucocorticoides (antes de la microinyección de CORT), y la baja afinidad de GRs se activo después de la administración de CORT (De Kloet y cols., 2005). Por lo tanto, parece probable que los efectos de CORT en PnO podrían ser sobre todo debidos a la ocupación de GRs, con un papel permisivo para MRs. Esta cooperación entre MR y GR ha sido reportada en las neuronas piramidales de CA1 en ratas (Karst y cols., 1993, 1994), La conductancia al Ca^{++} y la corriente entrante de rectificación de K^+ (I_Q) fueron pequeñas con activación predominante de MRs y aumentaron cuando GRs fueron adicionalmente activados. La activación GRs por sí sola no fue suficiente para producir grandes corrientes de Ca o para mejorar la amplitud de (I_Q).

La administración de CORT en PnO aumentó tanto la actividad motora como la RI con una latencia aparente corta y con efecto de larga duración (120 minutos) que sugiere la participación de los receptores a corticosteroides tanto membranales como intracelulares. Por otra parte, en el presente estudio el bloqueo de la CORT por los antagonistas de los receptores intracelulares podría indicar que sólo MR y GR median las acciones de CORT en PnO, pero, hay pruebas de que en algunos casos, los receptores membranales a corticosteroides pueden ser bloqueados. Por ejemplo Hua y Chen (1989), demostraron que las hormonas corticosteroides inducen un aumento rápido de conductancia postsináptica, los efectos de los esteroides fueron bloqueados con eficacia por la MIFEP, un antagonista de los GRs intracelulares. Diferentes aproximaciones experimentales son necesarias para abordar estas cuestiones.

En conclusión los resultados demuestran que la RI, así como la actividad motora puede ser potenciada tras la microinyección de CORT en el PnO. Estos datos sugieren que la CORT, en situaciones de estrés, puede llegar al PnO para modular algunas de las respuestas de defensa de los animales. El papel de CORT en otras estructuras neurales relacionadas con la modulación del RI, como el cuerpo estriado, núcleo accumbens, amígdala, hipocampo, hipotálamo, sustancia gris periacueductal y la región parabraquial no se puede descartar.

Con formato: Justificado, Sangría:
Primera línea: 1.25 cm

Con formato: Izquierda

Experimento II

La exposición continua de estímulos estresantes provoca un incremento de CORT plasmática, evento modelado mediante la administración repetida de CORT. Se ha descrito un proceso de desregulación del eje HPA inducido por niveles elevados de CORT modificando la liberación de CORT y la cantidad de receptores a los GCs en el cerebro. Los efectos dañinos de elevados niveles de CORT pueden inducir daño neuronal a nivel central en diferentes áreas del cerebro como el hipocampo, efecto probablemente mediado por un incremento en la formación de RL. En este trabajo se puso en evidencia que la administración sistémica de CORT provocó cambios en la conducta de la rata. Los cambios más importantes están relacionados con la conducta parecida a la depresión y la ansiedad, alteraciones que se correlacionan con una disminución en la actividad locomotora y como se ha reportado con la desregulación en el eje HPA y la secreción de serotonina. La CORT a nivel sistémico indujo disminución del peso corporal de la rata y el peso de las glándulas adrenales. La detección de los niveles de RL producidos, arrojó un incremento de RL en cerebro por el método directo.

Respecto a la estimulación repetida del eje HPA se ha reportado que produce daños en cerebro, como regulación a la baja de receptores (GR), daño en la capacidad del hipocampo para controlar la retroalimentación negativa de glucocorticoides. Lo anterior incrementa la secreción de glucocorticoides y promueve cambios neuronales en hipocampo y amígdala, así como disminución de neurogénesis y remodelación dendrítica en CA3 (Gregus, 2005). En el presente trabajo la administración exógena de CORT, indujo disminución en el peso de la glándulas adrenales, en este sentido se ha reportado que la susceptibilidad a ser

afectado por el estrés o la administración de CORT y la forma de manejarse es diferente entre los tejidos (Sahin, 2007) ya que músculo, hígado y cerebro no fueron afectados. La estimulación repetida con CORT probablemente provocó atrofia de la glándula al disminuir su estimulación, con niveles bajos de ACTH, provocando una disminución en el peso de esta glándula. Este efecto no se pueden demostrar en las ratas crónicamente estresadas ya que los niveles de ACTH son elevados y la secreción de CORT se eleva al menos 3 horas, en tanto que en la administración repetida de CORT, método que nosotros empleamos, dura por lo menos 24 Hrs. (Galea y cols., 1997; Sousa y cols., 1998).

Nuestros resultados confirman los obtenidos por otros grupos de investigadores que han encontrado un comportamiento similar a la depresión mayor en las ratas; aunque con una dosis mayor de CORT (20 y 40 mg / kg de peso corporal; Johnson y cols. 2006; Brotto y cols., 2001; Gregus y cols., 2005), que el utilizado en el presente estudio. Por otra parte, Zhao y cols., (2008) encontraron que con 20 mg / kg de peso corporal de tratamiento CORT, el efecto sobre inactividad en la prueba de nado forzado era dependiente del tiempo.

Los efectos de las inyecciones de CORT en la prueba de nado forzada fueron claros. La prueba de nado forzado es la prueba más utilizada y validada para valorar la conducta de la depresión en ratas. El sustento para su validez proviene de los hallazgos que indican que la prueba es sensible a las acciones de las principales clases de fármacos antidepresivos (Lucki, 1997; Porsolt y cols., 1978). Además, los tratamientos antidepresivos que son efectivos en los seres humanos incluyen a los antidepresivos atípicos, privación del sueño (REM), y la terapia electroconvulsiva, y en el modelo utilizando, en la rata se manifiesta como

disminución de la inmovilidad en las pruebas de nado forzado, mientras que los compuestos que aumentan la depresión en seres humanos incrementan la inmovilidad en la prueba de nado forzado (Porsolt, 1978). En este trabajo, las ratas mostraron un aumento de inmovilidad debida a la administración repetida de CORT y reducción del tiempo de nado en comparación con las ratas del VEH, los cuales son los comportamientos normales que se utilizan para inferir mayor "depresión" en ratas (Brotto y cols., 2001; Porsolt y cols., 1978; Porsolt y cols., 1977). Es importante destacar que estos cambios en la conducta no se debieron a los niveles de alteración de la actividad debido a que las ratas con CORT en lo general no mostraron diferencias significativas en los niveles de actividad locomotora en la prueba de campo abierto y tampoco hubo diferencia significativa en los valores del RI entre las ratas VEH y con CORT.

En el experimento I tanto la actividad locomotora como la RI aumentaron y demostramos el papel que tuvieron los receptores GR y MR. La administración repetida de CORT, en este caso, indujo una regulación a la baja de los receptores disminuyendo la manifestación del RI y de la actividad locomotora tanto en intensidad como en duración.

El aumento en la depresión observado en las ratas CORT es coherente con el hecho de que las ratas también mostraron disminución de la ganancia de peso al final del tratamiento, coincidentemente la medición se realizó a los 12 días de tratamiento, día en el que se observa diferencia significativa en el peso, consumo de alimento y agua disminuido, además se ha reportado que la administración repetida de CORT disminuye el comportamiento sexual en ratas macho (Gorzalka,

1998). Ambos (disminución de peso corporal y conducta sexual) son síntomas de depresión que pueden observarse en seres humanos.

Hay una serie de mecanismos por los que la administración repetida de CORT podría modificar la conducta parecida a la depresión en ratas. Las evidencias de un papel de la serotonina provienen del hecho de que la administración repetida de CORT incrementa la inmovilidad mientras que disminuye el tiempo de natación en la prueba de nado forzado. Los antidepresivos que actúan sobre el sistema de la serotonina reducen la inmovilidad y aumentan el tiempo de natación (Lucki, 1997). La posibilidad de modificar el funcionamiento de la serotonina tras las inyecciones repetidas de CORT es consistente con otros hallazgos que indican que la administración exógena crónica de CORT altera el funcionamiento serotoninérgico y la expresión de 5-HT_{1A} y de los receptores 5-HT_{2A} en ratas macho (Dickinson y cols., 1985; Fernández y cols., 1997; Gorzalka y Hanson 1998; Karten y cols., 1999).

También es posible que la inyección repetida de CORT incremente la conducta parecida a la depresión en el nado forzado a través de las alteraciones morfológicas y/o neuroquímicas en hipocampo, la amígdala, y corteza prefrontal (Jacobs y cols., 2000; Vyas y cols., 2002).

El estrés también, puede inducir ansiedad. La ansiedad generalizada se define como un estado de malestar caracterizado por intranquilidad, expectación aprehensiva y aumento de la vigilancia en ausencia de un estímulo desencadenante. Con frecuencia se manifiestan también reacciones autonómicas como sudoración, taquicardia, tensión muscular, temblor e insomnio, entre otros

(Kaplan, 1991). En roedores, el estado de ansiedad está directamente asociado con el comportamiento defensivo.

Las pruebas experimentales que apoyan un efecto ansiogénico de los glucocorticoides sobre un posible efecto ansiolítico parecen ser sólidas, Korte y cols., (1995) ha observado un bloqueo de la ansiedad causada por el miedo condicionado, valorado por el comportamiento de los animales en un laberinto en cruz, mediante la administración intracerebroventricular de antagonistas de los MR y GR (Korte, 1995). En otro trabajo se ha demostrado que el estrés por restricción de movimiento indujo efectos ansiogénicos que fueron bloqueados por la inhibición de la síntesis de glucocorticoides con metirapona y mimetizados por la administración sistémica de CORT (Calvo y cols., 1998). El posible efecto ansiogénico de los glucocorticoides podría tener como lugar de acción la amígdala central (Shepard, 2000).

Nuestros resultados apoyan la idea del efecto ansiogénico de la CORT y son congruentes con la disminución observada de la actividad locomotora en la prueba de campo abierto. La aplicación de ansiolíticos induce una desinhibición de las tendencias naturales de exploración en los ratones (Jacqueline, 1985). En reportes anteriores se demuestran que la adrenalectomía indujo disminución de la actividad exploratoria en las ratas, efecto que fue revertido por la administración de CORT (Valdehús y cols., 1982). De hecho, 5 mg / kg de CORT indujo un aumento significativo en la actividad motora y los estereotipos evaluado en 7,5 y 15 minutos después de la administración única (Sandi y cols., 1996).

Es de destacarse el doble efecto de la CORT, la administración repetida de CORT i.p por 12 días tuvo un efecto ansiogénico, en tanto que la administración

aguda intrapontino tuvo un efecto ansiolítico, los efectos sin embargo pueden indicar una participación de núcleos cerebrales en los que el PnO está involucrado, y no necesariamente el PnO está el centro de regulación de la conducta parecida a la ansiedad.

La exposición a CORT, conduce a una acumulación gradual de efecto neuronal deletéreo, resultando eventualmente en disfunción cerebral asociada con la edad, particularmente en el hipocampo (Landfield y cols., 1978).

Por otra parte, se ha reportado que la exposición a glucocorticoides (GC) o el estrés pueden conducir a daño oxidativo en diferentes tejidos y que los diferentes tipos de estrés pueden provocar aumento de lipoperoxidación en el cerebro (Normal y cols., 2008; Fontella y cols., 2005; Zafir y Bono 2009), sangre (Sahin y cols., 2004), y el hígado (Sahin y cols., 2007). Lo que indica una tasa elevada de estrés oxidativo, que es un índice de la sobreproducción de RL.

La medición de RL por la técnica de resonancia paramagnética electrónica (EPR) es una técnica directa de detección de RL, Todos los espectros muestran un pico a los 344 mT que corresponden a valor de (**g**) de alrededor de 2.000, pero con características específicas en cada uno de los tejidos que se midieron, en el caso del hígado se detectó un pico característico de RL con un valor de **g** = 2,029 , otros picos con valores de (**g**) por debajo y por encima de este y que podrían ser debido a metales como zinc o cobre. El estrés modifica la distribución de Zn, Fe y Ca. Zn es un componente importante en muchas enzimas, está involucrado en el sistema de defensa antioxidante. La disminución en Fe y Zn en la sangre de animales estresados refleja la transferencia de Fe y Zn de la sangre a otros órganos blanco que son afectados por el estrés. (Teng, 2008).

En el caso del cerebro tiene un pico en un valor de $g = 2.003$ y que es una señal única que demuestra la presencia de RL. Las mediciones del área bajo la curva y que corresponden a la cantidad de radicales libres presentes en las muestras, reflejaron una diferencia significativa entre VEH y CORT en las muestras de cerebro y sin cambio en las muestras de hígado.

La medición de TBARS no corresponde con los niveles de RL encontrados con la técnica de EPR en el cerebro. Los resultados de las mediciones de TBARS no arrojan diferencia significativa entre VEH y CORT de las muestras de los tejidos que se midieron en ningún caso. Este último dato contrasta con lo reportado por Zafir y Banu (2009) quienes sí encuentra diferencias significativas inducidas por el estrés en los valores de TBARS medidos en ratones. Quizás, estas diferencias se deba a el modelo de estrés que se utilizó con ratas, a la utilización de una dosis mayor a la que nosotros utilizamos (5 mg / kg) y al tiempo de exposición al evento estresante.

Los valores de la actividad de la SOD en sangre aumentaron de manera significativa a los 12 días en las ratas CORT, comparadas con las VEH, resultado consistente con lo reportado por Oishi y cols., (1999). Los valores de antioxidantes totales fueron significativamente menores en las ratas CORT comparadas con las VEH. Juntos los resultados indican que a nivel sistémico el mecanismo antioxidante mantienen un equilibrio con el sistema prooxidante ya que los valores de TBARS fueron iguales en las ratas CORT y las VEH, aunque el aumento de la actividad de la SOD indica un incremento en la lipoperoxidación al final no se refleja en una diferencia. El balance descrito a nivel sistémico seguramente no es correspondiente en el cerebro, los resultados del EPR reflejan

un incremento en los niveles de RL en las ratas CORT comparadas a las VEH. Sin embargo, datos de la actividad antioxidante de CAT y SOD podrían ayudar a describir el estado de RL en las áreas cerebrales relacionadas con las conductas que se midieron en este trabajo. La CAT y la SOD son las enzimas antioxidantes más importantes en respuesta a tratamientos antidepresivos (Zafir y Banu, 2009).

La medición de los RL con la técnica de EPR y TBARS se realizó en hipocampo por tener una presencia importante de receptores para GC. Los GC disminuyen el transporte de glucosa en las neuronas del hipocampo, se piensa que esta disminución conduce a una desenergización modesta y reduce la tasa metabólica y el consumo de O_2 en estas células (Tombaugh y cols., 1992). En relación a la glucosa plasmática no se ha encontrado aumento en el presente estudio, de acuerdo con los resultados de Bowes y cols., (1996), que utilizan el mismo modelo de la administración repetida de CORT. Sin embargo, son contradictorios con otros estudios que encuentran un aumento de la glucosa plasmática (Nirmal y cols. 2007; Yan-Hua y cols., 2005.) y disminución (Djordjevic y cols., 2010.) bajo diferentes modelos de estrés. A pesar de que los GC tienen un efecto bien conocido de hiperglucemia, de hecho aumentan los niveles de insulina también (Bowes y cols., 1996.). Por lo tanto, un mayor nivel de insulina podría explicar la falta de efecto hiperglucemiante esperado en el presente estudio. Este resultado también puede haberse debido a la disminución en la activación de los receptores a GCs. Se ha demostrado que la estimulación de los receptores a GCs incrementa la ingesta, nuestros resultados demuestran una disminución en el consumo de alimento (Cusin y cols., 2007), por lo tanto las evidencias apuntan a una caída de los receptores a GCs con las siguientes

consecuencias, menor consumo, la actividad locomotora disminuida y aumento del tiempo de reposo en campo abierto, disminuyendo la actividad exploratoria y conductas de acicalamiento etc. con el propósito de mantener las reservas de combustible. Este análisis pudiera contradecir los resultados de conducta en el sentido que el incremento de inmovilidad y disminución en el tiempo de nado en la prueba de nado forzado pudiera explicarse por el mismo mecanismo, es decir, adaptación a una disminución en el consumo de alimento y ahorro de energía.

Algunas de las alteraciones provocadas por la CORT han sido diferentes a lo esperado, pero en el caso del hígado no se encontraron diferencias significativas en el valor de formación de radicales libres porque además de que la dosis fue baja, a diferencia de los trabajos en los que se describen efectos, el hígado está protegido, además del sistema antioxidantes enzimático, por metalotioneínas. y se ha reportado que los GC inducen la síntesis de metalotioneínas (MT) (Hernández, 2000; Jacob, 1999). Se ha demostrado que las MTs reduce la peroxidación lipídica en ratas estresadas (Ping y cols., 2005), así como lo hace la dexametasona (Méndez-Armenta y cols., 2003). La mayor concentración de MT se encuentra en el hígado. Los residuos de cisteína de las MTs puede capturar peligrosos radicales oxidantes como el superóxido y radicales hidroxilo (Kumari, 1998). La capacidad de las MTs para capturar los radicales hidroxilo, es 300 veces mayor que la de glutatión (Li, 2004).

Discusión general

El cerebro es el órgano del cuerpo que, para proteger la integridad del organismo, interpreta determinadas experiencias y las distingue como amenaza o no, luego elabora las respuestas fisiológicas y la conducta para cada situación. Además del hipotálamo y el tallo cerebral, los cuales son esenciales para la respuesta del sistema nervioso autónomo y neuroendocrino a los agentes estresantes, áreas más altas del cerebro juega un papel clave en los procesos de memoria, ansiedad y toma de decisiones. Todas estas áreas cerebrales son blanco del estrés y de las hormonas que él moviliza.

Lo que se ha estudiado más y se conoce mejor en este sentido, es el hipocampo, y éste junto con el núcleo paraventricular del hipotálamo y la amígdala, son las áreas cerebrales, y también la corteza prefrontal, donde se expresan abundantemente, los receptores de corticoides; tanto los receptores de glucocorticoides (GR) como los de mineralocorticoides (MR).-

MR y GR, como hemos mencionado, juegan un papel importante en el hipocampo regulando el eje (HPA). En el área hipocámpal, con sus altas concentraciones de GR y MR, es particularmente sensible a los efectos potencialmente perjudiciales de los corticosteroides.

En el estrés crónico persiste un incremento de glucocorticoides en el plasma, y esos niveles altos regulan a la baja la expresión de los receptores GR en hipocampo y no se produce bien la retroalimentación negativa, y así el eje no se bloquea y los glucocorticoides circulantes continuarán altos. En este trabajo se ha encontrado que dichos sucesos tienen como consecuencia el descenso de los recursos energéticos del organismo por la acción catabólica de los glucocorticoides y el aumento del estrés oxidativo en algunos tejidos, (además de

producir la supresión de las respuesta inmunes), con todo lo cual se perturba la adaptación al estrés.

Los mecanismos moleculares que subyacen a los efectos de regulación de la señalización de corticosteroides aún no se han identificado.

La CORT opera a través de los MR y los GR, los cuales pertenecen a la familia de receptores nucleares que se unen a los elementos de respuesta en el ADN, modificando así la actividad de genes (Funder, 2007) (Lu y cols., 2010). Uno de los primeros genes estimulados transcripcionalmente por las hormonas del estrés es el de las cinasas del suero inducible por los glucocorticoides (SGK) (Webster, 1993), una familia de cinasas de serina/treonina que consta de tres isoformas. Los estudios realizados en Ovocitos de *Xenopus* han encontrado que SGK pueden activar ciertos canales iónicos (Lang y cols., 2006). Sin embargo, los blancos celulares y el significado funcional de SGKs en el sistema nervioso central están lejos de ser entendidos. Recientemente se ha descubierto que *in vivo* el estrés agudo induce una potenciación prolongada de AMPAR mediada por las corrientes sinápticas en neuronas piramidales PFC (Yuen y cols., 2009). Evidencias recientes sugieren que la CORT influye en la neurofisiología de células límbicas, modificando la transmisión sináptica y los canales iónicos (Joëls y cols., 2009). Por ejemplo, se ha encontrado que la CORT aumenta la amplitud de la corriente excitatoria postsináptica miniatura (mEPSC) mediada por receptores AMPA y la superficie de la expresión de las subunidades GluR1 y GluR2 en las neuronas del hipocampo (Karst, 2005), aumenta la superficie, la movilidad y el contenido sináptica de subunidades GluR2 de AMPA (Groc, 2008).

Con formato: Color de fuente: Negro

Con formato: Sangría: Primera línea: 1.25 cm, Espacio Después: 12 pto

Con formato: Español (México)

Además del hipocampo, la CORT tiene un potente impacto sobre la función de varias regiones líbicas clave que incluyen, la corteza prefrontal (PFC) (McEwen, 2007) y la amígdala (McEwen, 1999; de Kloet 2005). Se ha determinado que los GR y MR provocan cambios en la actividad neuronal dependiendo de la región. Por ejemplo, en las células piramidales CA1, la CORT cambia lentamente la corriente de Ca²⁺ y la transmisión a glutamato pero las células granulares dentadas parecen ser resistentes.

Con formato: Español (México)

Con formato: Color de fuente: Negro

Con formato: Color de fuente: Negro

Desde hace algunos años se ha especulado mucho acerca de la posibilidad de que los efectos conductuales rápidos de la CORT sean a través de una vía de señalización con receptores membranales. Estudios inmunohistoquímicos han demostrado que MR está presente principalmente en el compartimiento nuclear (Steensel, 1996; Nishi, 2001), con microscopía inmunoelectrónica se reportó además de su localización membranar en células de riñón. Se ha propuesto que parte de los MRs de cerebro, pueden transportarse del núcleo citoplásmico a la membrana celular, el transporte de receptores de esteroides no es algo nuevo, la incorporación de fracciones pequeñas de receptores de estrógenos (<10%) en la membrana celular ha sido demostrado (Song, 2002). Este mecanismo puede explicar el efecto rápido de excitabilidad en el hipocampo (Wong, 1992) y neuronas hipotalámicas (Kow, 2005), observado con estrógenos, el transporte de receptores puede involucrar un rearrreglo de proteínas chaperonas, como proteínas de golpe de calor (Karst y Joëls., 2005). Estudios recientes muestran que la CORT además ejerce efectos rápidos no genómicos dependientes de MR en CA1 del hipocampo (por ejemplo, incrementa la frecuencia de la corriente de

Con formato: Color de fuente: Negro

postináptica excitatoria miniatura (mEPSCs). Otros estudios ha demostrado que la CORT incrementa la frecuencia pero no la amplitud de mEPSC de las células del giro dentado. (Pasricha y cols., 2011).

Se sabe muy poco de la presencia de receptores glucocorticoides a nivel del tallo cerebral, nosotros hemos podido demostrar la activación de los receptores a MR y GR con la microinyección a nivel del PnO. El mecanismo a través del cual se están ejerciendo los efectos derivados de la unión de la CORT a dichos receptores, pueden explicarse a la luz de lo que se ha encontrado en otras áreas del cerebro mejor estudiadas como el hipocampo. Karts y Joëls., (2005) estableció la hipótesis MR/GR. Demostrarán que los mismos MR nucleares, que regulan transcripción de genes, residen también en las membranas de las neuronas de la región CA1 del hipocampo en donde los MR, fijando los glucocorticoides, realizan acciones rápidas no-genómicas. La actuación de MR por la llegada de glucocorticoides promueve pequeñas corrientes excitatorias postsinápticas (mEPSC), las cuales reflejan la posibilidad de secreción de glutamato. Los receptores MR de membrana aumentan rápidamente la transmisión pre y post sináptica y la transmisión excitatoria. Lo que se concluye es que la activación de estos receptores membranales MR en el hipocampo (y probablemente en el PnO), por la llegada de glucocorticoides, amplifica la transmisión cerebral de los procesos que subyacen en situaciones de alerta: atención, vigilancia y valoración de la situación.

El hiper estado de alerta que presenta la rata al ser estimulada con una microinyección de CORT es una respuesta transitoria determinada por el incremento en los niveles de CORT, lo cual implica una modificación en la facilidad

Con formato: Color de fuente: Negro

para unirse a los receptores, siendo mayor para MR en reposo y modificándose al aumentar los niveles de CORT.

Las respuestas de conducta a las situaciones nuevas dependen del tipo de receptor involucrada, y de la fase que se considere, y también de la clase de información que proporciona la experiencia nueva. Los estudios en rata han mostrado que la activación de los receptores GR promueve el almacenamiento y la consolidación de nueva información, mientras que la activación de MR no parece mediar los efectos de glucocorticoides referente al almacenamiento de información, sino, preferentemente, media procesos de valoración y de elección de una apropiada conducta para cada situación (De Kloet, 2005; Khaksari y Rashidpour, 2007).

Con formato: Color de fuente: Negro

Con formato: Color de fuente: Negro

Con formato: Color de fuente: Negro

Con formato: Color de fuente: Negro, Español (México)

Con formato: Color de fuente: Negro, Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Sangría: Primera línea: 0 cm

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, Color de fuente: Negro, Español (México)

VII. CONCLUSIONES

Con formato: Fuente: Arial, Color de fuente: Negro

Con formato: Fuente: Arial, Color de fuente: Negro

a) Los resultados demuestran que la RI, como la actividad motora puede ser potenciadas después de la microinyección de CORT en el PnO. Nuestros datos sugieren que CORT, en situaciones estresantes, puede llegar al PnO para modular alguna respuesta defensivas en los animales.

Con formato: Color de fuente: Negro

b) La administración repetida de CORT no potencia el RI ni la actividad locomotora de la rata. Nuestros resultados muestran una probable regulación a la baja

Con formato: Color de fuente: Negro

de los receptores a GC en el PnO que impidió la potenciación del RI y la actividad locomotora cuando se administró CORT de forma sistémica.

Con formato: Color de fuente: Negro

Con formato: Color de fuente: Negro

c) La CORT presenta una mayor afinidad por MR pero a concentraciones elevadas de la hormona, aumenta su afinidad para GR.

Con formato: Color de fuente: Negro

Con formato: Color de fuente: Negro

d) La desregulación del eje HPA inducida por la administración repetida de CORT aumentó la conducta parecidas a la ansiedad y depresión que se ponen de manifiesto de forma moderada.

Con formato: Fuente: Arial, Color de fuente: Negro

Con formato: Fuente: Arial, Color de fuente: Negro

Con formato: Fuente: Arial, Color de fuente: Negro

e) La administración repetida de CORT incrementó los RL en el cerebro y no en otros tejidos como el hígado, los mecanismo de protección antioxidante no fueron suficientes en el cerebro bajo el protocolo utilizado.

Con formato: Fuente: Arial, Color de fuente: Negro

VIII. REFERENCIAS

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 18 pto, Español (México)

Con formato: Centrado

Con formato: Fuente: Arial, Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Centrado, Sangría: Sangría francesa: 1.25 cm, Interlineado: Mínimo 12 pto, Ajustar espacio entre texto latino y asiático, Ajustar espacio entre texto asiático y números, Alineación de fuente: Arriba

Con formato: Fuente: Arial

Con formato: Fuente: Arial, Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Fuente: Times New Roman, 18 pto, Negrita, Diseño: Claro (Blanco)

1.- Aronsson M., Fuxe K., Dong Y., Agnati, L.F., Okret, S., Gustafsson, J. (1988) Localization of glucocorticoid receptor mRNA in the male rat brain by in situ hybridization. Proc. Nati. Acad. Sci. USA. 85:9331-9335.

2.- Aston-Jones G., and Bloom F.E. (1981a) Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. Journal of Neuroscience. 1: 876-886.

3.- Aston-Jones G., and Bloom F.E. (1981b) Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. Journal of neuroscience. 1:887-900.

4.- Astrid C.E., Linthorst a., and Johannes M.H.M. Reula. (2010) Chapter 4.1 - The Impact of Stress on Serotonergic Neurotransmission Handbook of Behavioral Neuroscience. 21:475-491.

Con formato: Inglés (Reino Unido)

- 5.- [Avanzino G.L., Eamzlo R., Ruggeri P., Coco C.E. \(1984\) Effect of microelectrophoretically applied corticosterone on raphe neurones in the rat. Neurosci Lett. 7:307-11.](#)
- 6.- [Belloso E, Hernandez J, Giralt M, Kille P, Hidalgo J. \(1996\) Effect of stress on mouse and rat brain metallothionein I and III mRNA levels. Neuroendocrinology. Dec;64\(6\):430-9.](#)
- 7.- [Berridge Craig W. \(2008\) Noradrenergic modulation of arousal Brain Research Reviews. 58:1-17](#)
- 8.- [Berridgea Craig W., Rodrigo A. España., Nicole M. Vittozc. \(2010\) Hypocretin/orexin in arousal and stress Brain Research. 1314:-91-102.](#)
- 9.- [Bowes S B., N. C. Jackson., D Papachristodoulou., A M Umpleby and P H Sönksen \(1996\) Effect of corticosterone on protein degradation in isolated rat soleus and extensor digitorum longus muscles. J Endocrinol 148:501-7](#)
- 10.- [Bracha H.S. \(2004\) Freeze, flight, fight, fright, faint: adaptationist perspectives on the acute stress response spectrum. CNS Spectr. 9:679-685.](#)
- 11.- [Braun C M., Pivik R., T. \(1983\) Effects of brainstem lesions on tonic immobility in the rabbit \(Oryctolagus cuniculus\). Brain Res Bull. 10:127-135.](#)
- 12.- [Breuner CW., Greenberg A.L., Wingfield J.C. \(1998\) Noninvasive corticosterone treatment rapidly increases activity in Gambels white-crowned sparrows \(Zonotrichia leucophrys gambeli\). Gen Comp Endocrinol. \(3\):-386-94.](#)
- 13.- [Brotto L.A., Gorzalka B.B., Barr A.M. \(2001\) Paradoxical effects of chronic corticosterone on forced swim behaviors in aged male and female rats. Eur J Pharmacol. 424:203–209.](#)
- 14.- [Calvo N., Martineja I.D., Molina V.A., and Volosin M. \(1998\) Metyrapone pretreatment prevents the behavioral and neurochemical sequele induced by stress. Brain Res. 800:-227-235.](#)
- 15.- [Carli G., Farabollini F., Fontani G. \(1981\) Effects of pain, morphine and naloxone on the duration of animal hypnosis. Behav. Brain Res. 2:373-385.](#)
- 16.- [Chameau P., Qin Y., Spijker S., Smit G., and Joe'ls M. \(2007\) Glucocorticoids specifically enhance L-type calcium current amplitude and affect calcium channel subunit expression in the mouse hippocampus. J. Neuro-physiol. 97:5–14.](#)
- 17.- [McEwen, B.S. \(2000\) Effects of adverse experiences for brain structure and function. Biol Psychiatry. 48; 721-31.](#)
- Cheshire R.M.,J.T. Cheng y P. Teitelbaum (1983). The inhibition of movement by morphine or haloperidol depends on an intact nucleus reticularis tegmenti pontis. Physiol. Behav. 30:809-818.
- 18.- [Coddington E., Lewis C.,Rose D J., Moore L.F. \(2007\). Endocannabinoids mediate the effects of acute stress and corticosterone on sex behavior. Endocrinol. 148:493-500.](#)
- 19.- [Cusin I, Rouru J, Rohner-Jeanrenaud F. \(2001\) Intracerebroventricular glucocorticoid infusion in normal rats: induction of parasympathetic-mediated obesity and insulin resistance. Obes Res. 9:-401-406.](#)
- 20.- [Datta S., Mac Lean R.R. \(2007\) Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: reinterpretation of historical evidence and](#)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Inglés (Reino Unido)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Sangría: Primera línea:
0 cm

- [inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. *Neurosci Biobehav Rev.* 31:775–824.](#)
- 21.- [Davies D.C., Martinez-Garcia F., Lanuza E., Novejarque A. \(2002\) Striato-amygdaloid transition area lesions reduce the duration of tonic immobility in the lizard *Podarcis hispanica*. *Brain Res. Bull.* 57:537-541.](#)
- 22.- [De Kloet E.R., Jöels M. \(2005\). Stress and brain: from adaptation to disease. *Nat.Rev. Neurosc.* 6:463-75.](#)
- 23.- [De Kloet E.R., Schmidt M., Meijer O.C. \(2005\) Corticosteroid receptors and HPA-axis regulation. *Handbook of stress and the brain.* Elsevier, Amsterdam. 265-294.](#)
- 24.- [De Kloet, E.R., De Kock, S., Schild, V., Veldhuis H.D., \(1988\). Antiglucocorticoid RU 38486 attenuates retention of a behaviour and disinhibits the hypothalamic-pituitary adrenal axis at different brain sites. *Neuroendocrinology.* 47:109-115.](#)
- [De Kloet, S De Kock, V Schild, and H.D Veldhuis \(1988A\). Glucocorticoid RU 38486 attenuates retention of a behaviour and disinhibits the hypothalamic-pituitary adrenal axis at different brain sites. *Neuroendocrinology.* 47:109-15.](#)
- 25.- [De la Cruz F., Junquera J., Russek M. \(1987\). Ontogeny of immobility reactions elicited by camping, bandaging and maternal transports in rats. *Exp Neurol.* 97:315-326.](#)
- 26.- [De La Cruz F., Urióstegui T., Zamudio S., Pacheco J., García M., Quevedo L., Chuc E., \(1995\) Potentiation of the immobility response elicited by bandaging and clamping in mesencephalic rats. *Physiol. Behav.* 58:737-742.](#)
- 27.- [De Quervain D.J., Roozendaal B., McGaugh J.L., \(1998\) Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature.* 394:787-790.](#)
- 28.- [Dickinson S.L., Kennett G.A., Curzon G. \(1985\) Reduced 5-hydroxytryptamine-dependent behavior in rats following chronic corticosterone treatment. *Brain Res.* 345:10-8.](#)
- 29.- [Djordjevic J.A., M. Adzic., A. Niciforovic., and M. B. Radojic. \(2010\) Chronic stress differentially affects antioxidant enzymes and modifies the acute stress response in liver of Wistar rats. *Physiol Res.* 59:729-36.](#)
- 30.- [Dubrovsky B., Williams D., Kraulis I. \(1985\) Effects of corticosterone and 5 \$\alpha\$ -dihydrocorticosterone on brain excitability in the rat. *J. Neurosci. Res.* 14:117-128.](#)
- 31.- [Duvarci S., Paré D. \(2007\) Glucocorticoids enhance the excitability of principal basolateral amygdala neurons. *J. Neurosci.* 27:4482-4491.](#)
- 32.- [Falkenstein E., T Hanns-Christian Tillmann., Michael Christ, Martin Feuring., And Martin Wehling. \(2000\) Multiple Actions of Steroid Hormones A Focus on Rapid, Nongenomic Effects. *Pharmacol Rev* 52:513–555, 2000.](#)
- 33.- [Faure J.M., Val-Laillet D., Guy G., Bernadet M.D., Guemene D. \(2003\) Fear and stress reactions in two species of duck and their hybrid. *Horm. Behav.* 43:568-572.](#)
- 34.- [Fenik V.B., Ogawa H., Davies R.O., Kubin L. \(2005\) Carbachol injections into the ventral pontine reticular formation activate locus coeruleus cells in urethane-anesthetized rats. *Sleep.* 28:551-559.](#)
- 35.- [Fernandes C., McKittrick C.R., File S.E., McEwn B. \(1997\) Decreased 5-HT1A and increased 5-HT2A receptor binding after chronic corticosterone associated with a behavioural indication of depresión but not anxiety. *Psychoneuroendocrinology.* 22: 477-491.](#)

Con formato: Español (México)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Inglés (Reino Unido)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Inglés (Reino Unido)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Alemán (Alemania)

- 36.- Flores G., Adriana B. Silvia-Gómez., David Barbeau., Lalit K. Srivastava., Sergio Zamudio, Fidel de La Cruz López. (2005). Effect of excitotoxic lesions of the neonatal ventral hippocampus on the immobility response in rats *Life Sci.* 76: 2339-2348
- 37.- Fontella F.U., Siqueira I.R., Vasconcellos A.P.S. (2005) Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. *Neurochem Res.* 30:105–111
- 38.- Fort P., Luppi P-H., Wenthold R., and Jouvet M. (1990) Neuronnes immunoréactifs á la glycine dans le bulbe rachidien du chat. *Comptes rendus de l'académie des Sciences.* 311:205-212.
- 39.- Funder J. W. (1997). *Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: biology and clinical relevance.* *Annu. Rev. Med.* 48:231–240.
- 40.- Fulford A.J., Harbuz M.S. (2005). An introduction to the HPA axis. In: T. Steckler, N.H. Kalin and J.M.H.M Reul (Eds.), *Handbook of stress and the brain.* Elsevier, Amsterdam. 43-65.
- 41.- Galea L.A., McEwen B.S., Tanapat P., Deak T., Spencer R.L., Dhab-har F.S. (1997). Sex differences in dendritic atrophy in response to chronic restraint stress. *Neuroscience.* 81:689-97
- 42.- Gallup Jr. G G., Boren J. L., Suarez S. D., Wallnua L. B., Gagliardi G. J. (1980) Evidence for the integrity of central processing during tonic immobility. *Physiol Behav.* 25: 189-194.
- 43.- Gallup Jr. G.G. (1974) Animal hypnosis: factual status of a fictional concept. *Psychol Bull.* 81:836-853.
- 44.- Ganong W. F. (2000) *Fisiología Médica.* 17a. ed. México: El Manual Moderno. 151-160.
- 45.- Gorzalka B.B., Hanson L.A. (1998) Sexual behavior and wet dog shakes in the male rat: regulation by corticosterone. *Behav Brain Res.* 97:143–51.
- 46.- Gregus A., Wintink J.A., Davis C.A., Kalybchuk E.L. (2005) Efect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behavioural Brain Research.* 156:105-114.
- 47.- Groc L., Choquet, D., and Chaouloff, F. (2008) The stress hormone corticosterone conditions AMPAR surface trafficking and synaptic potentiation. *Nat. Neurosci.* 11:868–870.
- 48.- Hallahan C., Young D.A., and Munck A. (1973) Time course of early events in the action of glucocorticoids on rat thymus cells in vitro. Synthesis and turnover of a hypothetical cortisol-induced protein inhibition of glucose metabolism and of a presumed ribonucleic acid. *J. Biol. Chem.* 248:2922–2927.
- 49.- Haller J., Halasz J., Makara G.B and Kruk M.R. (1998) Acute effects of glucocorticoids: Behavioral and pharmacological perspectives. *Neurosci Biobehav Rev.* 23:337–344.
- 50.- Harper R.M., (1971) Frecuency changes in hippocampal electrical activity during movement and tonic immobility. *Physiol. Behav.* 7:55-58.
- 51.- Hatton D.C., Woodruff M.L., Meyer M.E. (1975) Cholinergic modulation of tonic immobility in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Comp. Physiol.* 89:1053-1060.
- 52.- Henning C.W., (1978) Tonic immobility in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Primates* 19:333-342.
- 53.- Herman J.P., Cullinan W.E., (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.* 20:78-84.

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

- 54.- [Hernández J., Carrasco J., Belloso E., Giratt M., Bluethmann H., Lee K.D., Andrews G.K., Hidalgo J. \(2000\) Metallothionein induction by restraint stress: Role of glucocorticoids and IL-6. *Citokine*. 12:791-796.](#)
- 55.- [Hua S.Y., Chen Y.Z. \(1989\) Membrane receptor-mediated electrophysiological effects of glucocorticoid on mammalian neurons. *Endocrinology*. 124:687-691.](#)
- 56.- [Jacob S.T., Ghoshal K., Sheridan J.F., Source. \(1999\) Induction of metallothionein by stress and its molecular mechanisms. *Gene Expr*. 7:301-10.](#)
- 57.- [Jacobs B.L., Van Praag H., Gage F.H. \(2005\) Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Mol Psychiatry* 5:262-269.](#)
- 58.- [Jacobs B.L., Wilkinson L.O., Fornal C.A. \(1990\) The role of brain serotonin: A neurophysiologic perspective. *Neuropsychopharmacology*. 3:473-479.](#)
- 59.- [Jacqueline N. Crawley \(1985\) Exploratory behavior models of anxiety in mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 9:37-44.](#)
- 60.- [Jhonson A. S., Neil M. Fournier., Lisa E. Kalynchuk., \(2006\) Effect of doses of corticosterone on depression-like behavior and HPA axis responses to a novel stressor *Behavioural Brain Research* 168:-280-288.](#)
- 61.- [Joëls M., De Kloet E.R. \(1994\) Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the brain. Implications for ion permeability and transmitter systems. *Prog. Neurobiol.* 43:1-36.](#)
- 62.- [Joëls M., Krugers H. J., Lucassen P. J., and Karst, H. \(2009\) Corticosteroid effects on cellular physiology of limbic cells. *Brain Res*. 1293:91-100.](#)
- 63.- [Jones B.E. \(1990\) Influence of the brainstem reticular formation, including intrinsic monoaminergic and cholinergic neurons, on forebrain mechanisms of sleep and waking. In *The diencephalon and sleep*, edited by M. Mancia and G. Marini. New York: Raven Pres.](#)
- 64.- [Jones R.B., Mills A.D., Faure J.M., Williams J.B., \(1994\) Restraint, fear, and distress in Japanese quail genetically selected for long or short tonic immobility reactions. *Physiol. Behav.* 56:529-534.](#)
- 65.- [Kaplan H.I. y Sadok B.J. \(1991\) *Symposis of psychiatry: behavioral sciences clinical*. N., psychiatry \(ed.\) Baltimore: Lippincott Williams y Milkins.](#)
- 66.- [Karst, H., Wadman W.J., Joëls, M. \(1994\) Corticosteroid receptor-dependent modulation of calcium currents in rat hippocampal CA1 neurons. *Brain Res*. 649:234-242.](#)
- 67.- [Karst, H., Wadman W.J., Joëls M., \(1993\) Long-term control by corticosteroids of the inward rectifier in rat CA1 pyramidal neurons, in vitro. *Brain Res*. 612:172-179.](#)
- 68.- [Karten YJ., Nair SM., van Essen L., Sibug R., Joels M. \(1999\) Longterm exposure to high corticosterone levels attenuates serotonin responses in rat hippocampal CA1 neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*. 96:13456-61.](#)
- 69.- [Karts H., Stefan Berger., Marc Turiaul.T., Francois Tronche., Günther Schütz., and Marian Joëls. \(2005\) Mineralocorticoid receptors are indispensable for no-genomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc Natl. Acad. Scie. USA* 102:-19204-7.](#)
- 70.- [Karst H., and Joëls, M. \(2005\) Corticosterone slowly enhances miniature excitatory postsynaptic current amplitude in mice CA1 hippocampal cells. *J. Neurophysiol.* 94:3479-3486.](#)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Alemán (Alemania)

- 71.- [Kent W.D., Cross-Mellor S.K., Kavaliers M., Ossenkopp K.P. \(2000\) Acute effects of corticosterone on LiCl-induced rapid gustatory conditioning in rats: a taste reactivity analysis. Neuroreport. 11:3903-3908.](#)
- 72.- [Khaksari M., Rashidy-Pour A. \(2007\) Central mineralocorticoid receptors are indispensable for corticosterone-induced impairment of memory retrieval in rats. Neuroscience. 149:729-738.](#)
- 73.- [Klemm W.R. \(2001\). Behavioral arrest: in search of the neural control system. Prog Neurobiol. 65:453-471.](#)
- [Klemm W.R. \(1971\) Neurophysiologic studies of the immobility reflex \("animal hypnosis"\). WR Neurosci Res \(N Y\). 1:165-212.](#)
- 74.- [Klemm W.R. \(1976\) Identity of sensory and motor systems that are critical to the immobility reflex \("animal hypnosis"\). J. Neurosci. Res. 2:57-69.](#)
- 75.- [Klemm W.R. \(1989\) Drug effects on active immobility responses: what they tell us about neurotransmitter systems and motor functions. Prog. Neurobiol. 32:403-422.](#)
- 76.- [Klemm W.R. \(2001\) Behavioral arrest: in search of the neural control system. Prog Neurobiol. 65:453-471.](#)
- 77.- [Konigsberg Fainstein Mina. \(2008\) Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. Manual Moderno.](#)
- 78.- [Korte S.M., de Boer S.F., De Kloet E.R., and Bohus B. \(1995\) Anxiolytic-like effects of selective mineralocorticoids and glucocorticoid antagonists on fear-enhanced behavior in the elevated plus-maze. Psychoneuroendocrinology. 20:385-394.](#)
- 79.- [Kow L. M., Easton A. & Pfaff, D. W. \(2005\). Acute estrogen potentiates excitatory responses of neurons in rat hypothalamic ventromedial nucleus. Brain Res. 1043: 124-131.](#)
- 80.- [Krozowski E. R., de Kloet & van Driel R. \(1996\) Partial colocalization of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in discrete compartments in nuclei of rat hippocampus neurons. J. Cell Sci. 109:787-792.](#)
- 81.- [Kubli-Garfias C. \(1990\) Chemical structure of corticosteroids and its relationship with their acute induction of lordosis in the female rat. Horm Beba. 4:443-9.](#)
- 82.- [Kumari M.V., Ramana Midori Hiramatsu and Manuchair Ebadi. \(1998\) Free radical scavenging actions of metallothionein isoforms I and II. 29:93-101.](#)
- 83.- [Landfield P.W., Waymire J., and Lynch G. \(1978\) Hippocampal aging and adrenocorticoids: A quantitative correlation. Science. 202:1098-1102.](#)
- 84.- [Lang F., Böhmer C., Palmada M., Seeböhm G., Strutz-Seeböhm N., and Vallon V. \(2006\). \(Patho\) physiological significance of the serum and glucocorticoid-inducible kinase isoforms. Physiol. Rev. 86:1151-1178.](#)
- 85.- [Leite-Panissi C.R., Ferrarese A.A., Terzian A.L., Menescal-de-Oliveira L. \(2006\) Serotonergic activation of the basolateral amygdala and modulation of tonic immobility in guinea pig. Brain Res. Bull. 69:356-364.](#)
- 86.- [Leite-Panissi C.R., Menescal-de-Oliveira L. \(2002\) Central nucleus of the amygdala and the control of tonic immobility in guinea pigs. Brain Res. Bull. 58:13-5819.](#)
- 87.- [Li X., Chen H., Epstein P.N. \(2004\) Metallothionein protects islets from hypoxia and extends islet graft survival by scavenging most kinds of reactive oxygen species. J Biol Chem. 279:765-771.](#)
- 88.- [Lowry A. C., Burke A. H., Renner J. K., Moore L. F., y Orchinik M. \(2001\) Rapid Changes in monoamine Levels Following Administration of Corticotropin-Releasing](#)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Alemán (Alemania)

- Factor or Corticosterones Are Localized in the Dorsomedial Hypothalamus. Hormones and Behavior. 39:195-205
- 89.- Lu N. Z., Wardell S. E., Burnstein K. L., Defranco D., Fuller P. J., Giguere V., Hochberg R. B., McKay L., Renoir J. M., Weigel N. L., Wilson E. M., McDonnell D. P., and Cidlowski, J. A. (2006) International Union of Pharmacology. LXV. The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: glucocorticoid, mineralocorticoid, progesterone, and androgen receptors. Pharmacol.Rev. 58:782-797.
- 90.- Lowry A. C., Burke A. H, Renner J. K., Moore L. F. y Orchinik M. (2001). Rapid Changes in monoamine Levels Following Administration of Corticotropin Releasing Factor or Corticosterones Are Localized in the Dorsomedial Hypothalamus. Hormones and Behavior. 39:195-205
- Lucki I. (1997) The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. Behav Pharmacol. 8:523-32.
- 91.- Marin M.T., Cruz F.C., Planeta C.S. (2007) Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. Physiol. Behav. 90:29-35.
- 92.- Marinelli M., Rougé-Pont F., De Jesus-Oliveira C., Le Moal M., Piazza P.V. (1997) Acute blockade of corticosterone secretion decreases the psychomotor stimulant effects of cocaine. Neuropsychopharmacol. 16:156-161.
- 93.- Marrocco R.T., Whitte E.A., and Davidson M.C. (1994) Arousal systems. Current Opinion in Neurobiology. 4:166-170.
- 94.- Martín Jhon H. (2004) Neuroanatomía 2ed Pearson. España
- 95.- Marx B.P., Forsyth J.P., Gallup G.G., Fusé T., Lexington J.M. (2008) Tonic immobility as an evolved predator defense: implications for sexual assault survivors. Clin. Psychol. Sci. Pract. 15:74-90.
- 96.- Marzatico F., Beertorello L., Pansarasa O., Paola Guallini., Carla Torriand., Giuseppe Biagini. (1998) Brain Oxidative damage following acute immobilization and mild emotional stress. International Journal of Stress Management. 5:226-236
- 97.- Maser D. J., J.W Klara., and G.G Gallup Jr. (1973) Archistriatal lesions enhance tonic immobility in the chicken (Gallus gallus). Physiol Behav. 11:729-33.
- 98.- McEwen S.B. (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. Physiol Rev. 87:873-904.
- 99.- McEwen, B.S. (2000) Effects of adverse experiences for brain structure and function. Biol Psychiatry. 48:721-731.
- 100.- McEwen B. S. (1999) Stress and hippocampal plasticity. Annu. Rev. Neurosci. 22:105-122.
- 101.- McEwen B. S. (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. Physiol. Rev. 87:873-904
- 102.- Méndez-Armentaa Marisela., Juana Villeda-Hernández., Rosario Barroso-Moguelc., Concepción Nava-Ruíza., María E. Jiménez-Capdevilled and Camilo Ríos. (2003) Brain regional lipid peroxidation and metallothionein levels of developing rats exposed to cadmium and dexamethasone. Toxicology Letters. 144:151-157.
- 103.- Miranda A., De La Cruz F., Zamudio S.R. (2006) Immobility response elicited by clamping the neck induces antinociception in a "tonic pain" test in mice. Life Sci. 79:1108-1113.
- 104.-

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Español (México)

- Nirmal J., Babu S.Ch., Harisudhan Th., Ramanathan M. (2008) Evaluation of behavioural and antioxidant activity of *Cytisus scoparius* Link in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. 8:15 BMC Complementary and Alternative Medicine.
- 105.- Nishi M., Ogawa H., Ito T., Matsuda K. I. & Kawata M. (2001) Dynamic changes in subcellular localization of mineralocorticoid receptor in living cells: in comparison with glucocorticoid receptor using dual-color labeling with green fluorescent protein spectral variants. *Mol.Endocrinol.* 15:1077–1092.
- 106.- Ohtsuka A., Kojima H., Ohtani T., Havashi K. (1998) Vitamin E reduces glucocorticoid-induced oxidative stress in rat skeletal muscle. *J.Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 44(6):779-86
- 107.- Oishi K., Yokoi M., Maekawa S., Sodeyama C., Shiraishi T., Kondo R., Kuriyama T., and Machida K. (1999) Oxidative stress and haematological changes in immobilized rats. *Acta Physiol. Scand.* 165:65–69.
- 108.- Orchinik M., Murr, Moore F.L., (1991). A corticosteroid receptor in neuronal membranes. *Science.* 252:1848-1851.
- 109.- Overeem S., Lammers G.J., Van Dijk G. (2002). Cataplexy: 'tonic immobility' rather than 'REM-sleep atonia'? *Sleep Med.* 3:471-477.
- 110.- Pasricha N., M. Joels., H. Karts. (2011) Rapid effects of corticosterone in the Morse Dentate Gyrus via a nongenomic pathway. *Journal of neuropendocrinology* 23:143-147.
- 111.- Paxinos G., Watson C. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press Inc. New York.
- 112.- Ping Jiang., Lin Chang., Chun-Shui Pan., Yong-Fen Qi., Chao-Shu Tang (2005). Protective role of metallothionein in stress-induced gastric ulcer in rats. *World J. Gastroenterol.* 11:2739-2743.
- 113.- Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 266:730–2.
- 114.- Porsolt R.D, Antón G., Deiel M., Jalfre M. (1978) Behavioural despair in rats: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J. Pharmacol.* 47:379-91.
- 115.- Quirarte G.L., Ledesma de la Teja., S. Casillas M., Serafin N., Prado-Alcalá R.A., Roozendaal B. (2009) Corticosterone infused into the dorsal striatum selectively enhances memory consolidation of cued water-maze training. *Learn. Mem.* 16: 586-589.
- 116.- Rakshit A., Klemm W R. (1980) Depth-duration profile of the immobility reflex: Theoretical implications for its triggering, sustaining and terminating mechanisms. *J Neurosci Res.* 5:-253-262.
- 117.- Ratka W Sutanto., M Bloemers., and E.R de Kloet. (1989) On the role of brain mineralocorticoid (type I) and glucocorticoid (type II) receptors in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology.* 50:117-23.
- 118.- Reid A.E. (2001) Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 121:710-23.
- 119.- Rose J.D., Moore F.L. (1999) A neurobehavioral model for rapid actions of corticosterone on sensorimotor integration. *Steroids.* 64:92-99.
- 120.- Sahin E., y Gümüslü S. (2007) Stress-dependent Induction of protein oxidation, lipid peroxidation and anti-oxidants in peripheral tissues of rats: comparison of three stress models (immobilization, cold and immobilization-cold). *Clinical and Experimental pharmacology and Physiology.* 34:425-431.

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Inglés (Reino Unido)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Español (México)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Español (México)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Alemán (Alemania)

121. Sahin E. and Gümüslü S. (2006c). Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 144:342-347. **Con formato: Alemán (Alemania)**
122. Sahin, E., Gümüslü S., Öztürk O., Abidin I., Yargicoglu P., Agar A. (2004) Marked changes in erythrocyte antioxidants and lipid peroxidation levels of rats exposed to acute, repeated and chronic restraint stress. *Pharmazie*. 7-59(12). Pp.: 960-964. **Con formato: Alemán (Alemania)**
Con formato: Alemán (Alemania)
Con formato: Inglés (Estados Unidos)
123. Sajadi, A.A., Samaei S.A., Rashidy-Pour A. (2006) Intra-hippocampal microinjections of anisomycin did not block glucocorticoid-induced impairment of memory retrieval in rats: an evidence for non-genomic effects of glucocorticoids. *Behav. Brain Res.* 173:158-162. **Con formato: Inglés (Estados Unidos)**
124. Sandi C., Venero C., y Guaza C. (1996) Novelty-related Rapid Locomotor Effects of Corticosterone in rats. *European Journal of Neuroscience*. 8:794-800. **Con formato: Español (México)**
Con formato: Inglés (Reino Unido)
125. Sevil, Duvarci and Denis Pare (2007) Glucocorticoids Enhance the Excitability of Principal Basolateral Amygdala Neurons. *The Journal of Neuroscience*. 27:4482-4491. **Con formato: Inglés (Reino Unido)**
Con formato: Inglés (Estados Unidos)
Con formato: Inglés (Estados Unidos)
126. Shepard, J.D., Barron K.W., and Myers D.A. (2000) Corticosterone delivery to the amygdala increases corticotrophin-releasing factor mRNA in the central amygdaloid nucleus and anxiety-like behavior. *Brain Res.* 861:288-295. **Con formato: Inglés (Estados Unidos)**
127. Sirera R, Sánchez PT, Camps C. (2006) Inmunología, estrés, depresión y cáncer. *Psicooncología* 3:35 – 48. **Con formato: Español (México)**
128. Skorzewska, A., Bidzinski A., Lehner M., Turzynska D., Wislowska-Stanek A., Sobolewska A., Szyndler J., Maciejak P., Taracha E., Plaznik A. (2006) The effects of acute and chronic administration of corticosterone on rat behavior in two models of fear responses, plasma corticosterone concentration, and C-Fos expression in the brain structures. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 85:522-534. **Con formato: Inglés (Estados Unidos)**
129. Smythe, J.W., Murphy D., Timothy C., Costall B., (1997b). Hippocampal mineralocorticoid, but not glucocorticoid, receptors modulate anxiety-like behavior in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56:507-513.
130. Smythe, J.W., Murphy D., Timothy C., Gul G.H, Costall B. (1997a) Cognitive dysfunctions induced by scopolamine are reduced by systemic or intrahippocampal mineralocorticoid receptor blockade. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56:613-621.
131. Song R. X. D., McPherson R. A., Adam L., Bao Y., Shupnik M., Kumar R. & Santen R. J. (2002) Linkage of rapid estrogen action to MAPK activation by ERalpha-Shc association and Shc pathway activation. *Mol. Endocrinol.* 16:116-127.
132. Sousa N., Almeida OFX, Holsboer F., Paula-barbosa MM, Madeir MD. (1998) Maintenance of hippocampal cell numbers in young and aged rats submitted to chronic unpredictable stress. Comparison with the effects of corticosterone treatment. *Stress*. 2:237-249. **Con formato: Español (México)**
Con formato: Español (México)
Con formato: Español (México)
Con formato: Español (México)
133. Tasker, G.J., Di S., Malcher-Lopes R. (2005) Rapid central corticosteroid effects: evidence for membrane glucocorticoid receptors in the brain. *Integr. Comp. Biol.* 45:665-671.
134. Teng Wen-feng, Wei-min Sun, Li-fei Shi and Dian-dong Hou, Hui Liu. (2008) Effects of Restraint Stress on Iron, Zinc, Calcium, and Magnesium Whole Blood Levels in Mice. *Biol Trace Elem Res.* 121:243-248. **Con formato: Alemán (Alemania)**
Con formato: Alemán (Alemania)
Con formato: Alemán (Alemania)

135. [Tenk, C.M., Kavaliers M., Ossenkopp K.P. \(2006\) The effects of acute corticosterone on lithium chloride-induced conditioned place aversion and locomotor activity in rats. Life Sci. 79:1069-1080.](#)
136. [Tombaugh, G.C. Yang. S-H.Swanson, R.A., & Sapolsky R.M \(1992\) Glucocorticoids exacerbate hypoxic and hypoglycemic hippocampal injury in vitro: Biochemical correlates and a role for astrocytes. Journal of Neurochemistry. 59:137-146.](#)
137. [Valdhuis, H.D., de Kloet E.R., Van Zoest, I. and Bohus B. \(1982\) Adrenalectomy reduces exploratory activity in the rat: a specific role of corticosterone. Horm. Behav. 16:191-198.](#)
138. [Van Steensel B., Van Binnendijk EP., Hornsby CD., Van der Voort HT., Krozowski Z.S., de Kloet E.R., Van Driel R. \(1996\) Partial colocalization of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in discrete compartments in nuclei of rat hippocampus neurons. J. Cell Sci. 109:787-792.](#)
139. [Vertes, R.P. \(1981\) An analysis of ascending brain stem systems involved in hippocampal synchronization and desynchronization. J. Neurophysiol. 46:1140-1159.](#)
140. [Ver Karst H. \(2005\) Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. Proc Nat. Acad. Sci. 27:19204-19207.](#)
141. [Vertes, R.P. \(1982\) Brain stem generation of the hippocampal EEG. Prog. Neurobiol. 19:159-186.](#)
142. [Vertes, R.P., Kocsis B. \(1997\) Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. Neuroscience. 81:893-926.](#)
143. [Vyas A., Mitra R., Rao BS., Chattarji S. \(2002\) Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. J Neurosci. 2:6810-8.](#)
144. [Wallnau L. B., Gallup Jr, G.G. \(1977\) A serotonergic midbrain raphe model of tonicimmobility. Biobehav Rev. 1:35-43.](#)
145. [Webster M. K., Goya L., Ge Y., Maiyar A. C., and Firestone, G. L. \(1993\). Characterization of sign, a novel member of the serine/threonine protein kinase gene family which is transcriptionally induced by glucocorticoids and serum. Mol. Cell. Biol. 13:2031-2040.](#)
146. [Wehling M \(1997\) Specific, nongenomic actions of steroid hormones. Annu Rev Physiol 59:365-393](#)
147. [Wong M., y Moss R. L. \(1992\) Long-term and short-term electrophysiological effects of estrogen on the synaptic properties of hippocampal CA1 neurons. J. Neurosci. 12: 3217-3225.](#)
148. [Woodruff, M.L., Hatton D.C., Meyer M.E. \(1975\) Hippocampal ablation prolongs immobility response in rabbits \(Oryctolagus cuniculus\). J. Comp. Physiol. Psychol. 88:329-334.](#)
149. [Xi, M., Morales F.R., Chase M.H. \(2004\) Interactions between GABAergic and cholinergic processes in the nucleus pontis oralis: neuronal mechanisms controlling active \(rapid eye movement\) sleep and wakefulness. J. Neurosci. 24:10670-10678.](#)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Alemán (Alemania)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Francés (Francia)

150. [Xi, M.C., Fung S.J., Yamuy J., Morales F.R., Chase M.H. \(2002\) Induction of active \(REM\) sleep and motor inhibition by hypocretin in the nucleus pontis oralis of the cat. J Neurophysiol. 6:2880-8.](#)
151. [Xua Y., Bb, C. Zhanga., Bb, R. Wangc., S.S. Govindarajana., P.A. Barisha., M.M. Vernona., C. Fud., A.P. Acharyaa., L. Chene., E. Boykina., J. Yue., J. Pane., J.M. O'Donnellb., —andy W.O. Oglea. \(2011\) —Corticosterone induced morphological changes of hippocampal and amygdaloid cell lines are dependent on 5-HT7 receptor related signal pathway. Neuroscience. 182:;71-81.](#)
152. [Yan-Hua Lin., Ai-Hua Liu., Ying Xu., Lu Tie., He-Ming Yu and Xue-Jun Li. \(2005\) Effect of chronic unpredictable mild stress on brain–pancreas relative protein in rat brain and pancreas. Behavioural Brain Research. 165:;63-71.](#)
153. [Yuen E. Y., Liu, W., Karatsoreos, I. N., Feng, J., McEwen, B. S., and Yan, Z. \(2009\) Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106:14075–14079.](#)
154. [Zafir, A., Banu, N. \(2009\) Induction of oxidative stress by restraint stress and corticosterone treatments in rats. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics. 46:53-58.](#)
155. [Zamudio S R \(1999\) Aspectos neurofisiológicos del reflejo de inmovilidad en la rata. Tesis de Doctorado, IPN, México DF.](#)
156. [Zamudio, S.R., Quevedo-Corona L., Garcés L., De La Cruz F. \(2009\) The effects of acute stress and acute corticosterone administration on the immobility response in rats. Brain Res. Bull. 80:331-336.](#)
157. [Zhao Y., Ma R., Shen J., Su H., Xing D., Du L. \(2008\) A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections. Eur J. Pharmacol. 26:;113-20.](#)
- [Van Steensel B., van Binnendijk EP, Hornsby CD, van der Voort HT, Krozowski ZS, de Kloet ER, van Driel R. \(1996\), Partial colocalization of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in discrete compartments in nuclei of rat hippocampus neurons. J Cell Sci. 109:787-92](#)
- [Krozowski, E. R., de Kloet & van Driel, R. \(1996\), Partial colocalization of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in discrete compartments in nuclei of rat hippocampus neurons. J. Cell Sci. 109, 787–792.](#)
- [Nishi, M., Ogawa, H., Ito, T., Matsuda, K. I. & Kawata, M. \(2001\). Dynamic changes in subcellular localization of mineralocorticoid receptor in living cells: in comparison with glucocorticoid receptor using dual-color labeling with green fluorescent protein spectral variants. Mol. Endocrinol. 15, 1077–1092.](#)
- [Song, R. X, D., McPherson, R. A., Adam, L., Bao, Y., Shupnik, M., Kumar, R. & Santen, R. J. \(2002\). Linkage of rapid estrogen action to MAPK activation by ERalpha-Shc association and Shc pathway activation. Mol. Endocrinol. 16, 116–127.](#)
- [Wong, M. & Moss, R. L. \(1992\). Long term and short term electrophysiological effects of estrogen on the synaptic properties of hippocampal CA1 neurons. J. Neurosci. 12, 3217–3225.](#)

Con formato: Francés (Francia)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Con formato: Inglés (Reino Unido)

Con formato: Español (México)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Sangría: Primera línea: 0 cm

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

- Kow L. M., Easton, A. & Pfaff, D. W. (2005). Acute estrogen potentiates excitatory responses of neurons in rat hypothalamic ventromedial nucleus. Brain Res. 1043, 124–131.
- Pasricha N, M. Joels, H. Ksrtz . 2011. Rapid effects of corticosterone in the Morse Dentate Gyrus via a nongenomic pathway. Journal of neuroendocrinology 23:143-147.
- Webster, M. K., Goya, L., Ge, Y., Maiyar, A. C., and Firestone, G. L. (1993). Characterization of sgk, a novel member of the serine/threonine protein kinase gene family which is transcriptionally induced by glucocorticoids and serum. Mol. Cell. Biol. 13, 2031–2040.
- Yuen, E. Y., Liu, W., Karatsoreos, I. N., Feng, J., McEwen, B. S., and Yan, Z. (2009). Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106, 14075–14079.
- McEwen, B. S. (1999). Stress and hippocampal plasticity. Annu. Rev. Neurosci. 22, 105–122.
- McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. Physiol. Rev. 87, 873–904.
- de Kloet, E. R., Joeˆls, M., and Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. Nat. Rev. Neurosci. 6, 463–475.
- Joeˆls, M., Krugers, H. J., Lucassen, P. J., and Karst, H. (2009). Corticosteroid effects on cellular physiology of limbic cells. Brain Res. 1293, 91–100.
- Karst, H., and Joeˆls, M. (2005). Corticosterone slowly enhances miniature excitatory postsynaptic current amplitude in mice CA1 hippocampal cells. J. Neurophysiol. 94, 3479–3486.
- Groc, L., Choquet, D., and Chaouloff, F. (2008). The stress hormone corticosterone conditions AMPAR surface trafficking and synaptic potentiation. Nat. Neurosci. 11, 868–870.
- Chameau, P., Qin, Y., Spijker, S., Smit, G., and Joeˆls, M. (2007). Glucocorticoids specifically enhance L type calcium current amplitude and affect calcium channel subunit expression in the mouse hippocampus. J. Neuro-physiol. 97, 5–14.
- Funder, J. W. (1997). Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: biology and clinical relevance. Annu. Rev. Med. 48, 231–240.
- Lu, N. Z., Wardell, S. E., Burnstein, K. L., Defranco, D., Fuller, P. J., Giguere, V., Hochberg, R. B., McKay, L., Renoir, J. M., Weigel, N. L., Wilson, E. M., McDonnell, D. P., and Cidlowski, J. A. (2006). International Union of Pharmacology. LXV. The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: glucocorticoid, mineralocorticoid, progesterone, and androgen receptors. PharmacolWebster, M. K., Goya, L., Ge, Y., Maiyar, A. C., and Firestone, G. L. (1993). Characterization of sgk, a novel member of the serine/threonine protein kinase gene family which is transcriptionally induced by glucocorticoids and serum. Mol. Cell. Biol. 13, 2031–2040.
- Lang, F., Boˆhmer, C., Palmada, M., Seebohm, G., Strutz-Seebohm, N., and Vallon, V. (2006). (Patho)physiological significance of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase isoforms. Physiol.

VII. REFERENCIAS

Con formato: Izquierda, Sangría:
Primera línea: 0 cm, Interlineado:
sencillo, Alineación de fuente:
Automática

Berridge Craig W., a, 2008 Noradrenergic modulation of arousal Brain Research Reviews Volume 58, Issue 1, June, Pages 1-17

Aronsson, M., Fuxe, K., Dong, Y., Agnati, L.F., Okret, S., Gustafsson, J., 1988.

Aston-Jones, G., and Bloom, F.E. 1981a Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. Journal of Neuroscience, 1, 876-886.

Aston-Jones, G., and Bloom, F.E. Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. Journal of neuroscience, 1981b, 1, 887-900.

Astrid C.E. Linthorst, a, and Johannes M.H.M. Reula 2010 Chapter 4.1—The Impact of Stress on Serotonergic Neurotransmission Handbook of Behavioral Neuroscience. Volume 21, Pages 475-491.

Avanzino, G.L., Eamzlo, R., Ruggeri, P., Coco, C.E., 1984. Effect of microelectrophoretically applied corticosterone on raphe neurones in the rat. Neurosci Lett. 7;50(1-3):307-11.

Berridge Craig W., Rodrigo A. España Nicole M. Vittozc 2010 Hypocretin/orexin in arousal and stress Brain Research Volume 1314, 16 February, Pages 91-102

Bowes S B, N C Jackson, D Papachristodoulou, A M Umpleby and P H Sönksen (1996) Effect of corticosterone on protein degradation in isolated rat soleus and extensor digitorum longus muscles. J Endocrinol 148(3):501-7

Bracha, H.S., 2004. Freeze, flight, fight, fright, faint: adaptationist perspectives on the acute stress response spectrum. CNS Spectr. 9, 679-685.

Braun C M, Pivik R T (1983). Effects of brainstem lesions on tonic immobility in the rabbit (Oryctolagus cuniculus). Brain Res Bull. 10: 127-135.

Breuner CW, Greenberg AL, Wingfield JC. 1998 Noninvasive corticosterone treatment rapidly increases activity in Gambel's white-crowned sparrows (Zonotrichia leucophrys gambeli). Gen Comp Endocrinol. (3): 386-94

Brotto LA, Gorzalka BB, Barr AM. Paradoxical effects of chronic corticosterone on forced swim behaviors in aged male and female rats. Eur J Pharmacol 2001;424:203-9.. }

Galvo N, Martineja, I.D., Molina, V.A., and Volosin, m. 1998. Metyrapone pretreatment prevents the behavioral and neurochemical sequelae induced by stress. Brain Res. 800: 227-235.

Carli, G., Farabollini, F., Fontani, G., 1981. Effects of pain, morphine and naloxone on the duration of animal hypnosis. Behav. Brain Res. 2, 373-385.

Chesire R.M., J.T. Cheng y P. Teitelbaum (1983). The inhibition of movement by morphine or haloperidol depends on an intact nucleus reticularis tegmenti pontis. Physiol. Behav. 30:809-818.

Coddington E, Lewis C, Rose D J, Moore L F (2007). Endocannabinoids—mediate the effects of acute stress and corticosterone on sex behavior. Endocrinol 148: 493-500.

Datta, S., MacLean, R.R., 2007. Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. Neurosci Biobehav Rev. 31, 775-824.

Davies, D.C., Martinez Garcia, F., Lanuza, E., Novejarque, A., 2002. Striato-amygdaloid transition area lesions reduce the duration of tonic immobility in the lizard Podarcis hispanica. Brain Res. Bull. 57, 537-541.

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Reino Unido)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Reino Unido)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

~~De Kloet, E.R., De Koek, S., Schild, V., Veldhuis H.D., 1988. Antiglucocorticoid RU 38486 attenuates retention of a behaviour and disinhibits the hypothalamic-pituitary adrenal axis at different brain sites. Neuroendocrinology, 47, 109-115.~~

~~De Kloet, E.R., Schmidt, M., Meijer, O.C. 2005. Corticosteroid receptors and HPA-axis regulation. In: T. Steckler, N.H. Kalin and J.M.H.M Reul (Eds.), Handbook of stress and the brain. Elsevier, Amsterdam, pp. 265-294.~~

~~De Kloet, S De Koek, V Schild, and HD Veldhuis 1988Antiglucocorticoid RU 38486 attenuates retention of a behaviour and disinhibits the hypothalamic-pituitary adrenal axis at different brain sites. Neuroendocrinology, ; 47(2): 109-15.~~

~~De la Cruz F., Junquera J, Russek M (1987). Ontogeny of immobility reactions elicited by campling, bandaging and maternal transports in rats. Exp Neurol. 97: 315-326.~~

~~De La Cruz F., Urióstegui, T., Zamudio, S., Pacheco, J., García, M., Quevedo, L., Chue, E., 1995. Potentiation of the immobility response elicited by bandaging and clamping in mesencephalic rats. Physiol. Behav. 58, 737-742.~~

~~De La Cruz, F., Junquera, J., Russek, M., 1987. Ontogeny of immobility reactions elicited by clamping, bandaging, and maternal transports in rats. Exp. Neurol. 97, 315-326.~~

~~De Quervain, D.J, Roozendaal, B., McGaugh, J.L., 1998. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long term spatial memory. Nature 394, 787-790.~~

~~Dickinson SL, Kennett GA, Curzon G. Reduced % hydroxytryptamine dependent behavior in rats following chronic corticosterone treatment. Brain Res 1985;345:10-8~~

~~Djordjevic J, A Djordjevic, M Adzic, A Niciforovic and M B Radojicic(2010) Chronic stress differentially affects antioxidant enzymes and modifies the acute stress response in liver of Wistar rats. Physiol Res 59(5):729-36~~

~~Dubrovsky, B., Williams, D., Kraulis, I., 1985. Effects of corticosterone and 5 α -dihydrocorticosterone on brain excitability in the rat. J. Neurosci. Res. 14, 117-128.~~

~~Duvarej, S., Paré D., 2007. Glucocorticoids enhance the excitability of principal basolateral amygdala neurons. J. Neurosci. 27, 4482-4491.~~

~~Faure, J.M., Val-Laillet, D., Guy, G., Bernadet, M.D., Guemene, D., 2003. Fear and stress reactions in two species of duck and their hybrid. Horm. Behav. 43, 568-572.~~

~~Fenik, V.B., Ogawa, H., Davies, R.O., Kubin, L., 2005. Carbachol injections into the ventral pontine reticular formation activate locus coeruleus cells in urethane anesthetized rats. Sleep 28, 551-559.~~

~~Fernandes, C, McKittrick, C.R., File, S.E., McEwn, B.S., 1997. Decreased 5-HT1A and increased 5-HT2A receptor binding after chronic corticosterone associated with a behavioural indication of depression but not anxiety. Psychoneuroendocrinology 22, 477-491.~~

~~Flores G, Adriana B Silvia Gómez, David Barbeau, Lalit K Srivastava, Sergio Zamudio, Fidel de La Cruz López (2005). Life Sci. (76) 2339-2348~~

~~Fontella FU, Siqueira IR, Vasconcellos APS et al (2005) Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. Neurochem Res 30:105-111~~

~~Fulford, A.J., Harbuz, M.S., 2005. An introduction to the HPA axis. In: T. Steckler, N.H. Kalin and J.M.H.M Reul (Eds.), Handbook of stress and the brain. Elsevier, Amsterdam, pp.43-65.~~

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Galea LA, McEwen BS, Tanapat P, Deak T, Spencer RL, Dhab-har FS. 1997 Sex differences in dendritic atrophy in response to chronic restraint stress. *Neuroscience* 81:689-97

Gallup Jr. G-G (1974). Animal hypnosis: factual status of a fictional concept. *Psychol Bull.* 81: 836-853.

Gallup Jr. G-G, Boren J-L, Suarez S-D, Wallnua L-B, Gagliardi G-J (1980). Evidence for the integrity of central processing during tonic immobility. *Physiol Behav.* 25: 189-194.

Ganong W-F (2000). Fisiología médica. 17a. ed. México: El Manual Moderno pp. 151-160.

Gorzalka BB, Hanson LA. Sexual behavior and wet dog shakes in the male rat: regulation by corticosterone. *Behav Brain Res* 1998;97:143-51

Gregus A., Wintink J.A., Davis C.A., Kalybehuk E.L. (2005). Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behavioural Brain Research.* 156:105-114

Harper, R.M., 1971. Frequency changes in hippocampal electrical activity during movement and tonic immobility. *Physiol. Behav.* 7, 55-58.

Hatton, D.C., Woodruff, M.L, Meyer M.E., 1975. Cholinergic modulation of tonic immobility in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Comp. Physiol. Psychol.* 89, 1053-1060.

Henning, C.W., 1978. Tonic immobility in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Primates* 19, 333-342.

Herman, J.P., Cullinan, W.E., 1997. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.* 20, 78-84

Hua, S.Y., Chen, Y.Z., 1989. Membrane receptor-mediated electrophysiological effects of glucocorticoid on mammalian neurons. *Endocrinology* 124, 687-691.

Jacobs BL, van Praag H, Gage FH. Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Mol Psychiatry* 2000;5: 262-9.

Falkenstein E., T Hanns Christian Tillmann, Michael Christ, Martin Feuring, And Martin Wehling 2000 Multiple Actions of Steroid Hormones A Focus on Rapid, Nongenomic Effects *Pharmacol Rev* 52:513-555, 2000.

Wehling M (1997) Specific, nongenomic actions of steroid hormones. *Annu Rev Physiol* 59:365-393.

Haller J, Halasz J, Makara GB and Kruk MR (1998) Acute effects of glucocorticoids: Behavioral and pharmacological perspectives. *Neurosci Biobehav Rev* 23:337-344.

Jacobs, B.L., Wilkinson, L.O., Fornal, C.A. 1990. The role of brain serotonin: A neurophysiologic perspective. *Neuropsychopharmacology*. 1990,3,473-479.

Jacqueline N. Crawley 1985 Exploratory behavior models of anxiety in mice *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. Volume 9, Issue 1, Spring 1985, Pages 37-44

Jhonson A. S., Neil M. Fournier, Lisa E. Kalynchuk 2006 Effect of doses of corticosterone on depression-like behavior and HPA axis responses to a novel stressor *Behavioural Brain Research* 168 (2006) 280-288.

Joëls, M., de Kloet, E.R., 1994. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the brain. Implications for ion permeability and transmitter systems. *Prog. Neurobiol.* 43, 1-36.

Jones, B.E. 1990 Influence of the brainstem reticular formation, including intrinsic monoaminergic and cholinergic neurons, on forebrain mechanisms of sleep and waking. In the diencephalon and sleep, edited by M. Mancini and G. Marini. New York: Raven Press, 1990.

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Reino Unido)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Jones, R.B., Mills, A.D., Faure, J.M., Williams, J.B., 1994. Restraint, fear, and distress in Japanese quail genetically selected for long or short tonic-immobility reactions. *Physiol. Behav.* 56, 529-534.

Kaplan, H.I. y Sadok, B.J. (1991). *Symposio de psiquiatria: be havioral sciences clinical*, N., psychiatry (ed.) Baltimore: Lippincott-Williams y Milkins.

Karst, H., Wadman, W.J., Joëls, M., 1993. Long-term control by corticosteroids of the inward rectifier in rat CA1 pyramidal neurons, in vitro. *Brain Res.* 612, 172-179.

Karst, H., Wadman, W.J., Joëls, M., 1994. Corticosteroid receptor-dependent modulation of calcium currents in rat hippocampal CA1 neurons. *Brain Res.* 649, 234-242.

Karten YJ, Nair SM, van Essen L, Sibug R, Joels M. Long-term exposure to high corticosterone levels attenuates serotonin responses in rat hippocampal CA1 neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:13456-61.

Kent, W.D., Cross-Mellor, S.K., Kavaliers, M., Ossenkopp, K.P., 2000. Acute effects of corticosterone on LiCl-induced rapid gustatory conditioning in rats: a taste reactivity analysis. *Neuroreport* 11, 3903-3908.

Klemm W.R. (2001). Behavioral arrest: in search of the neural control system. *Prog Neurobiol.* 65: 453-471.

Klemm W.R. (1976). Identity of sensory and motor systems that are critical to the immobility reflex ("animal hypnosis"). *J. Neurosci. Res.* 2:57-69.

Klemm y col., (1971) Neurophysiologic studies of the immobility reflex ("animal hypnosis"). *WR Neurosci Res (N.Y)*, January 1; 4: 165-212.)

Klemm, W.R., 1989. Drug effects on active immobility responses: what they tell us about neurotransmitter systems and motor functions. *Prog. Neurobiol.* 32, 403-422.

Korte, S.M., de Boer, S.F., de Kloet, E.R. and Bohus, B. 1995. Anxiolytic-like effects of selective mineralocorticoids and glucocorticoid antagonists on fear-enhanced behavior in the elevated plus-maze. *Psychoneuroendocrinology* 20: 385-394.

Kubli-Garfias C. 1990. Chemical structure of corticosteroids and its relationship with their acute induction of lordosis in the female rat. *Horm Behav* (4);443-9

Landfield, P.W., Waymire, J., & Lynch, G. (1978) Hippocampal aging and adrenocorticoids: A quantitative correlation. *Science*, 200, 1098-1102.

Leite-Panissi, C.R., Ferrarese, A.A., Terzian, A.L., Menescal-de-Oliveira, L., 2006. Serotonergic activation of the basolateral amygdala and modulation of tonic immobility in guinea pig. *Brain Res. Bull.* 69, 356-364.

Leite-Panissi, C.R., Menescal-de-Oliveira, L., 2002. Central nucleus of the amygdala and the control of tonic immobility in guinea pigs. *Brain Res. Bull.* 58, 13-19.

Localization of glucocorticoid receptor mRNA in the male rat brain by in

Lowry A. C., Burke A. H., Renner J. K., Moore L. F. y Orchinik M. (2001) Rapid Changes in monoamine Levels Following Administration of Corticotropin-Releasing Factor or Corticosterones Are Localized in the Dorsomedial Hypothalamus. *Hormones and Behavior* 39, 195-205

Lueki I. (1997). The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol.* 8:523-32.

Marin, M.T., Cruz, F.C., Planeta, C.S., 2007. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiol. Behav.* 90, 29-35.

Con formato: Inglés (Reino Unido)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Marinelli, M., Rougé-Pont, F., De Jesus-Oliveira, C., Le Moal, M., Piazza, P.V., 1997. Acute blockade of corticosterone secretion decreases the psychomotor stimulant effects of cocaine. *Neuropsychopharmacol.* 16, 156-161.

Marrocco, R.T., Whitte, E.A., and Davidson, M.C. 1994 Arousal systems. *Current Opinion in Neurobiology.* 4, 166-170.

Martín Jhon H.. *Nuroanatomía 2004 2ed Ed.* Pearson-España

Marx, B.P., Forsyth, J.P., Gallup, G.G., Fusé, T., Lexington, J.M., 2008. Tonic immobility as an evolved predator defense: implications for sexual assault survivors. *Clin. Psychol. Sci. Pract.* 15, 74-90.

Marzatico F, Beertorello L, Pansarasa O., Paola guallini., Carla torri., and giuseppe Biagini. Brain Oxidative damage following acute immobilization and mild emotional stress *International Journal of Stress Management*, Vol. 5, No. 4, 1998

Marzatico F, Bertorelli L., O, Pansarasa., P. Guallini., C.Torri., and G. 1998 Biagini Brain oxidative damage following Acute immobilization and mild emotional stress *International Journal of stress management* 5; 226-236

Maser D J, JW Klara, and GG Gallup Jr. (1973). Archistriatal lesions enhance tonic immobility in the chicken (*Gallus gallus*). *Physiol Behav.* 11: 729-33;

microelectrophoretically applied corticosterone on raphe neurons in the rat. *Neurosci. Lett.* 50, 307-311.

Miranda, A., De La Cruz, F., Zamudio, S.R., 2006. Immobility response elicited by clamping the neck induces antinociception in a "tonic pain" test in mice. *Life Sci.* 79, 1108-1113.

Nirmal J., Babu S.Ch., Harisudhan Th., Ramanathan M. (2008). Evaluation of behavioural and antioxidant activity of *Cytisus scoparius* Link in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. 8:15 *BMC Complementary and Alternative Medicine.*

Ohtsuka A, Kojima H, Ohtani T, Havashi K. (1998). Vitamin E reduces glucocorticoid-induced oxidative stress in rat skeletal muscle. *J.Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 44(6):779-86

Oishi, K., Yokoi, M., Maekawa, S., Sodeyama, C., Shiraishi, T., Kondo, R., Kuriyama, T., and Machida, K. 1999. Oxidative stress and haematological changes in immobilized rats. *Acta Physiol. Scand.* 165:65-69.

Orchinik, M., MurrY, t.f., Moore, F.L., 1991. A corticosteroid receptor in neuronal membranes. *Science* 252, 1848-1851.

Overeem S, Lammers GJ, van Dijk Jg. 2002 Cataplexy "tonic immobility" rather than REM sleep atonia? *Sleep Med.* 2002 (6):471-7

Overeem, S., Lammers, G.J., van Dijk, G., 2002. Cataplexy: 'tonic immobility' rather than 'REM sleep atonia'? *Sleep Med.* 3, 471-477.

Paxinos G, Watson C (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Academic Press Inc. New York.

Porsolt RD, Antón G, Deiel M, Jalfre M. 1978 Behavioural despair in rats: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.* 47:379-91.

Porsolt RD, Antón G, Deiel M, Jalfre M. 1978 Behavioural despair in rats: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.* 47:379-91.

Porsolt RD, Anton G, Vlvet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978;47:379-91.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977;266:730-2.

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Quirarte, G.L., Ledesma de la Teja, S., Casillas, M., Serafin, N., Prado Alcalá, R.A., Roozendaal, B., 2009. Corticosterone infused into the dorsal striatum selectively enhances memory consolidation of cued water maze training. *Learn. Mem.* 16, 586-589.

Rakshit A, Klemm W R (1980). Depth-duration profile of the immobility reflex: Theoretical implications for its triggering, sustaining and terminating mechanisms. *J Neurosci Res.* 5 : 253-262.

Rakshit, A., Klemm, W.R., 1980. Depth-Duration profile of the immobility reflex: Theoretical implications for its triggering, sustaining, and terminating mechanisms. *J Neurosci. Res.* 5:253-262.

Ratka, W Sutanto, M Bloemers, and ER de Kloet 1989 a On the role of brain mineralocorticoid (type I) and glucocorticoid (type II) receptors in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*,; 50(2): 117-23.

Reid AE. 2001 Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. Sep;121(3):710-23.

Rose, J.D., Moore, F.L., 1999. A neurobehavioral model for rapid actions of corticosterone on sensorimotor integration. *Steroids* 64, 92-99.

Sahin E y Gümüslü S. (2006c). Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 144:342-347.

Sahin E y Gümüslü S. (2007). Stress-dependent induction of protein oxidation, lipid peroxidation and anti-oxidants in peripheral tissues of rats: comparison of three stress models (immobilization, cold and immobilization-cold). *Clinical and Experimental pharmacology and Physiology*. 34:425-431.

Sahin, E., Gümüslü, S., Öztürk, O., Abidin, I., Yargicoglu, P., Agar, A. 2004 Marked changes in erythrocyte antioxidants and lipid peroxidation levels of rats exposed to acute, repeated and chronic restraint stress. *Pharmazie* 7 59(12). Pp. 960-964

Sajadi, A.A., Samaei, S.A., Rashidy Pour, A., 2006. Intra-hippocampal microinjections of anisomycin did not block glucocorticoid-induced impairment of memory retrieval in rats: an evidence for non-genomic effects of glucocorticoids. *Behav. Brain Res.* 173, 158-162.

Sandi C, Venero C, y Guaza C. (1996). Novelty-related Rapid Locomotor Effects of Corticosterone in rats. *European Journal of Neuroscience*. Vol. 8, pp. 794-800.

Shepard, J.D., Barron, K.W., and Myers, D.A. 2000. Corticosterone delivery to the amygdala increases corticotrophin-releasing factor mRNA in the central amygdaloid nucleus and anxiety-like behavior. *Brain Res.* 861: 288-295.

Sirera R, Sánchez PT, Camps C. (2006) Inmunología, estrés, depresión y cáncer. *Psicooncología* 3: 35-48.

situ hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 9331-9335.

Skorzewska, A., Bidzinski, A., Lehner, M., Turzyska, D., Wislowska-Stanek, A., Sobolewska, A., Szyndler, J., Maciejak, P., Taracha, E., Plaznik, A., 2006. The effects of acute and chronic administration of corticosterone on rat behavior in two models of fear responses, plasma corticosterone concentration, and c-Fos expression in the brain structures. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 85, 522-534.

Smythe, J.W., Murphy, D., Timothy, C., Costall B., 1997b. Hippocampal mineralocorticoid, but not glucocorticoid, receptors modulate anxiety-like behavior in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56, 507-513.

Smythe, J.W., Murphy, D., Timothy, C., Gul, G.H, Costall B., 1997a. Cognitive dysfunctions induced by scopolamine are reduced by systemic or intrahippocampal mineralocorticoid receptor blockade. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56, 613-621.

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Reino Unido)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Reino Unido)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Reino Unido)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Sin Negrita, Color de fuente: Automático

Sousa N, Almeida OFX, Holsboer F, Paula barbosa MM, Madeir MD. Maintenance of hippocampal cell numbers in young and aged rats submitted to chronic unpredictable stress. Comparison whit the effects of corticosterone treatment. *Stress* 1998; 2:237-49.

Tasker, G.J., Di, S., Malcher-Lopes, R., 2005. Rapid-central corticosteroid effects: evidence for membrane glucocorticoid receptors in the brain. *Integr. Comp. Biol.* 45, 665-671.

Tenk, C.M., Kavaliers, M., Ossenkopp, K.P., 2006. The effects of acute corticosterone on lithium chloride-induced conditioned place aversion and locomotor activity in rats. *Life Sci.* 79, 1069-1080.

Tombaugh, G.C. Yang, S.H., Swanson, R.A., & Sapolsky, R.M. (1992). Glucocorticoids exacerbate hypoxic and hypoglycemic hippocampal injury in vitro: Biochemical correlates and a role for astrocytes. *Journal of Neurochemistry*, 59, 137-146.

Valdhuys, H.D., de Kloet, E.R., van Zoest, I. and Bohus B. (1982) Adrenalectomy reduces exploratory activity in the rat: a specific role of corticosterone. *Horm. Behav.*, 16, 191-198.

Vertes, R.P., 1981. An analysis of ascending brain stem systems involved in hippocampal synchronization and desynchronization. *J. Neurophysiol.* 46, 1140-1159.

Vertes, R.P., 1982. Brain stem generation of the hippocampal EEG. *Prog. Neurobiol.* 19, 159-186.

Vertes, R.P., Kocsis, B. 1997. Brainstem diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience* 81, 893-926.

Vyas A, Mitra R, Rao BS, Chattarji S. 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci*;2:6810-8.

Wallnau L B, Gallup Jr. G G (1977). A serotonergic midbrain raphe model of tonicimmobility. *Biobehav Rev.* 1: 35-43.

Woodruff, M.L., Hatton, D.C., Meyer M.E., 1975. Hippocampal ablation prolongs immobility response in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Comp. Physiol. Psychol.* 88, 329-334.

Xi MC, Fung SJ, Yamuy J, Morales FR, Chase MH. 2002 Induction of active (REM) sleep and motor inhibition by hypocretin in the nucleus pontis oralis of the cat. *J Neurophysiol.* (6):2880-8.

Xi, M., Morales, F.R., Chase M.H., 2004. Interactions between GABAergic and cholinergic processes in the nucleus pontis oralis: neuronal mechanisms controlling active (rapid eye movement) sleep and wakefulness. *J. Neurosci.* 24, 10670-10678.

Xua Y., b, C. Zhanga, b, R. Wangc, S.S. Govindarajana, P.A. Barisha, M.M. Vernona, C. Fud, A.P. Acharyaa, L. Chene, E. Boykina, J. Yue, J. Pane, J.M.

O'Donnellb, , and W.O. Oglea. 2011 Corticosterone induced morphological changes of hippocampal and amygdaloid cell lines are dependent on 5-HT7 receptor related signal pathway. *Neuroscience Volume 182*, 19 May, Pages 71-81

Yan Hua Lin, Ai Hua Liu, Ying Xu, Lu Tie, He Ming Yu and Xue Jun Li. 2005 Effect of chronic unpredictable mild stress on brain-pancreas relative protein in rat brain and pancreas *Behavioural Brain Research Volume 165*, Issue 1, 30 November, Pages 63-71

Zafir, A., Banu, N. 2009 Induction of oxidative stress by restraint stress and corticosterone treatments in rats *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 46 (1), pp. 53-58

Zamudio S R (1999). Aspectos neurofisiológicos del reflejo de inmovilidad en la rata. Tesis de Doctorado, IPN, México DF.

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático

~~Zamudio, S.R., Quevedo-Corona, L., Garcés, L., De La Cruz, F. (2009) The effects of acute stress and acute corticosterone administration on the immobility response in rats. Brain Res. Bull. 80:331-336.~~

~~Zhao Y, Ma R, shen J, Su H, Xing D, Du L. 2008 A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections, Eur J. Pharmacol feb 26;581(1-2):113-20~~

=

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Estados Unidos)

Código de campo cambiado

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Times New Roman, Color de fuente: Automático, Inglés (Estados Unidos)