

ISSN: 1988-2688

<http://www.ucm.es/BUCM/revistasBUC/portal/modulos.php?name=Revistas2&id=RCCV&col=1>

<http://dx.doi.org/10.5209/RCCV.55217>



Revista Complutense de Ciencias Veterinarias 2017 11(especial):59-65

**HIPERACTIVACIÓN NORADRENÉRGICA AMIGDALAR EN LA
FISIOPATOLOGÍA DE UN MODELO DE TRASTORNO POR ESTRÉS POST-
TRAUMÁTICO EN RATA**

**AMIGDALAR NORADRENERGIC HYPERACTIVATION IN THE
PHYSIOPATOLOGY OF A POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER ANIMAL
MODEL**

Hernández Calle, Daniel

Facultad de Medicina. UCM. Madrid. España. Correspondencia: soydanihdez@gmail.com

RESUMEN

La sintomatología de hiperactivación del Trastorno por Estrés Post-Traumático (TEPT) es reproducible en ratas a través del modelo denominado Inescapable Foot Shock (IFS). Este trabajo investiga el papel de la noradrenalina amigdalар en su fisiopatología mediante el aumento de la sensibilización al estrés. Para ello se aplicó el IFS a ratas Wistar y se estudió la respuesta de hiperactivación que presentaban ante un ambiente novedoso y la capacidad del propranolol intramigdalар para revertirlo, así como la respuesta noradrenérgica en amígdala ante un estrés inespecífico agudo ejercido mediante contención mecánica. En el grupo de ratas sometido al IFS se observó, frente a las no expuestas: 1) disminución de la distancia recorrida en los primeros 5 minutos en un Campo abierto, revertido mediante propranolol amigdalар 2) aumento de noradrenalina amigdalар ante contención mecánica. Se estableció que la noradrenalina contribuye a la fisiopatología de la hiperactivación tras la exposición al IFS.

Palabras clave: TEPT, noradrenalina, amígdala, propranolol, hiperactivación

ABSTRACT

The hyperarousal symptomatology in Post-traumatic Stress Disorder (PTSD) can be reproduced in rats using the animal model “Inescapable Foot Shock (IFS)”. The aim of this study is to investigate the role of the noradrenaline in the hyperarousal physiopathology through stress sensitivity (decreased stress threshold). For this goal Wistar rats were exposed to IFS in order to study the hyperarousal response in an OpenField and the ability of intraamigdalal propranolol infusion to ameliorate it, as well as the amigdalal noradrenaline reactivity during an acute inespecific stress (acute restrain). In the rat group exposed to IFS was observed, opposed to the non-exposed: 1) a decrease of locomotion in the first 5 minutes, which was reverted after amigdalal propranolol infusion. 2) an enhanced amigdalal noradrenaline reactivity to an acute inespecific stress. This data demonstrate that amigdalal noradrenaline has a relevant role in the hyperarousal symptoms after exposure to IFS.

Keywords: PTSD, noradrenaline, amygdala, propranolol, hyperarousal

INTRODUCCIÓN

Tras un episodio extremadamente traumático aparece un estado de estrés agudo que cede en un mes, pero en el 30% de los casos este se perpetúa hasta constituir un Trastorno por Estrés Post-Traumático (TEPT) en donde la clínica de re experimentación (flashbacks...), evitación de lo que recuerde el episodio, embotamiento afectivo y síntomas derivados de hiperactivación (insomnio, fácil sobresalto, hípervigilancia...) perduran en 1/3 de los casos hasta 10 años después del trauma.

Neurobiológicamente, la persistencia de sintomatología crónica tras un único episodio estresante implica cambios neuronales duraderos que en la sintomatología de la hiperactivación se traducen a hipertrofia dendrítica de las células principales de la amígdala con consecuente sobreactivación amigdalal duradera (Vyas *et al.* 2004), siendo ésta una estructura básica para consolidación de recuerdos con fuerte componente emocional.

Las vías patogénicas que llevan a estos cambios histológicos son complejas. La fuerte carga emocional del evento traumático produce una fuerte sobreactivación amigdalal transitoria y así una fuerte consolidación del recuerdo que facilitan la clínica de la re experimentación. La reexposición de una circunstancia similar a la traumática evocará esta misma emoción de intenso miedo, con consecuente clínica de evitación. En circunstancias normales la asociación (evento traumático-miedo) se disiparía con el tiempo, pero aquí se consolida pues el condicionamiento es tan fuerte que la propia reexperimentación mental reproduce la conducta del miedo (Siegmund *et al.* 2007).

Esto conlleva una estimulación amigdalara continua que provoca cambios neuronales duraderos y su sobreactivación crónica, de forma que lo que suponen pequeñas situaciones estresantes para un individuo normal en el paciente con TEPT generan una intensa respuesta de ansiedad. De esta manera se explican los síntomas de hiperactivación, como el fácil sobresalto (Brunetti *et al.* 2010). La hiperactivación amigdalara implica una hiperreactividad de noradrenalina (NA) pues es ésta la principal responsable de su plasticidad sináptica (Roozendaal B *et al.*, 2009). A pesar de que existen pocos estudios en humanos, en pacientes con TEPT se ha visto un aumento de NA en LCR (líquido céfalorraquídeo), tanto basal como inducido por estímulos no relacionados al trauma (Geraciotti *et al.* 2001).

Los modelos de TEPT se basan en someter a los animales a un agente fuertemente estresante. Así el Inescapable Foot Shock (IFS) consiste en la exposición a shocks eléctricos sin escapatoria, provocando conductas de hiperactivación ante estímulos relacionados o no al agente traumático y una sensibilización noradrenérgica inespecífica (Stam 2007), fenómenos trasladables al TEPT. En este estudio se utilizó como estímulo estresante inespecífico la inmovilización de la rata con un aparato de tela ajustado mediante *velcro* (contención mecánica) y la exposición por vez primera a un Campo abierto u OpenField (OF) por sus siglas en inglés, un instrumento bien validado que permite estudiar de forma informatizada la conducta del animal en esta circunstancia. La hiperactividad noradrenérgica se estudió cuantificando la NA *in vivo* en el dializado de LCR obtenido a través de una cánula insertada en amígdala (microdialísis).

El presente ensayo pretende estudiar el papel de la NA a nivel de la amígdala en la sintomatología hiperactivación en el IFS como modelo de TEPT en ratas.

MATERIAL Y MÉTODO

Las ratas Wistar se dividieron en tres grupos: 1) implantación de cánulas amigdalares bilaterales para microdialísis; 2) un segundo grupo no sometido a cirugía 3) implantación de cánulas amigdalares bilaterales para microinyecciones de propranolol. Tras 7 días de recuperación cada uno de los anteriores grupos se dividió en otros 2 (sometidos a IFS vs control). Tras otros 7 días se sometió al primer grupo a una contención mecánica de 40 minutos, mientras se monitorizaban los niveles de NA en amígdala con microdialísis. El segundo grupo se sometió al OF (*MED Associates INC, St. Albans, USA*) sin habituación previa, utilizando la distancia recorrida como parámetro para evaluar la respuesta a la novedad. El tercer grupo fue sometido al OF tras la infusión de propranolol directamente en

amígdala. Las diferencias entre los valores de NA amigdalar (IFS_{vs}control) y de distancia recorrida en el OF (IFS_{vs}control) se calcularon mediante ANOVA doble vía (grupo-tiempo).

RESULTADOS

Como muestra la (**figura 1**), la contención aumentó significativamente la concentración de NA en las ratas sometidas a IFS frente al control ($F_{(1,19)} = 6.76$, $p = 0.018$).

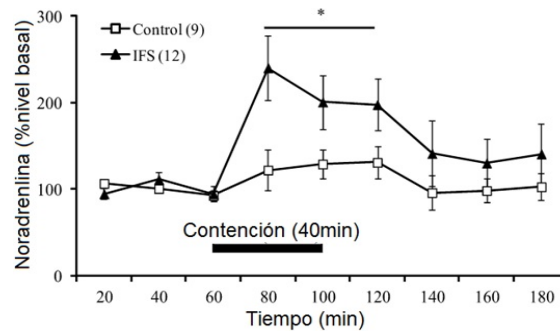


Figura 1. Efecto de la contención mecánica (40min) en IFS y control en los niveles de NA amigdalar. Los datos (media \pm EEM) representan el perfil temporal de la concentración de NA como porcentaje sobre los niveles basales. El número de animales se muestra entre paréntesis. * $p < 0,05$ comparado con los controles, según ANOVA 2 vías (grupo x tiempo) de medidas repetidas.

La (**figura 2**) refleja la distancia recorrida en los primeros 5 minutos de OF. Ésta es significativamente menor en el grupo de ratas expuesto al IFS ($F_{(1,17)} = 92,94$, $p < 0.001$).

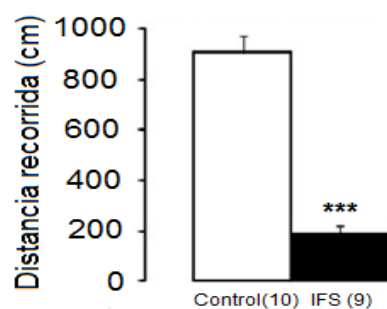


Figura 2. Efecto del IFS en actividad exploratoria inducida por la novedad en el OpenField (5 primeros minutos). Los datos se repesran (media \pm EEM) se expresan en cm de distancia recorrida. *** $p < 0.001$ comparado con los controles mediante ANOVA de dos vías (grupo x tiempo) de medidas repetidas. El número de animales se muestra entre parentesis.

En el grupo control la infusión amigdalар de 0.5µg de propranolol provocó una disminución de la distancia recorrida frente a la infusión de vehículo (LCR) ($F_{(1,29)}=11,78, p= 0.002$) (**figura 3**). En comparación, en el grupo sometido al IFS la infusión del fármaco aumentó significativamente la distancia recorrida ($F_{(1,29)}=19,36, p<0,001$).

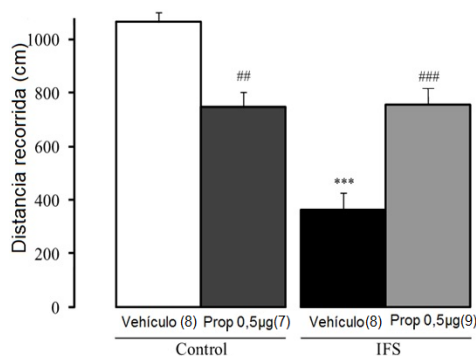


Figura 3. Efecto del propranolol amigdalар en la actividad exploratoria ante la novedad en el OpenField (5 primeros minutos). Los datos (media± EEM) se expresan como distancia recorrida (cm) en los primeros 5 minutos. El número de animales se muestra entre paréntesis. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ comparado con vehículo; *** $p < 0.001$ frente a control, calculado mediante ANOVA doble vía.

DISCUSIÓN

En el TEPT la hiperactivación conlleva un aumento de la respuesta de hipervigilancia ante un estímulo estresante inespecífico, lo que implica un aumento de la reactividad de NA amigdalар ante una situación estresante. Los estudios a este respecto miden metabolitos en LCR, muestras histológicas o niveles periféricos, pero no directamente NA amigdalар *in vivo*. En este estudio se observó que las ratas sometidas al IFS mostraban un aumento de la NA reactivo a una contención mecánica. Esto reproduce la hiperactivación reactiva a estrés del *locus ceruleus* (principal núcleo NA central) medida *in vivo* en ratas sometidas a un modelo análogo de TEPT (George *et al.* 2013).

La respuesta normal de una rata ante un espacio abierto novedoso es su exploración, constituyendo una disminución de dicha conducta una expresión de hipervigilancia. Para cuantificar esta respuesta se sometió un grupo de ratas al OF. Como se observa en la (**figura 2**), el grupo experimental recorrió menos distancia en los primeros 5 minutos que el grupo control, aunque no durante el resto de la hora. Se interpretó que el IFS imprime ciertos cambios neuroquímicos que provocan una sobreactivación amigdalар frente a pequeños estímulos estresantes, haciendo que quede inmovilizada en un primer momento para después

desarrollar una actitud habitual. Esta hipersensibilidad ante un pequeño estrés aparece en humanos, constituyendo el fácil sobresalto un criterio diagnóstico.

Al ser el propranolol un beta 1 y 2 antagonista, su infusión amigdal ar amortiguaría esta conducta de disminución de exploración. Para comprobarlo se sometió a las ratas de nuevo al OF tras la infusión de 0.5µg de propranolol en amígdala bilateral. Se usó un nuevo grupo de ratas para que la exposición al OF fuera novedosa. Como se aprecia en la (**figura 3**), el fármaco provocó una disminución de la distancia recorrida en el grupo control, mientras que en las sometidas a IFS se vio aumentada. Se podría deducir que una activación NA amigdal ar sería beneficiosa al inducir un nivel adaptativo de estrés (exploración), pero su sobreactivación tras la exposición a IFS resultaría perjudicial (inmovilidad) induciendo la sintomatología de hiperactivación en este modelo animal de TEPT.

CONCLUSIÓN

El IFS provoca síntomas de hiperactivación en ratas, como es el aumento de sensibilidad al estrés que en el presente ensayo se ha estudiado mediante la disminución de la actividad exploratoria ante un ambiente novedoso. Dado que dicha conducta es revertida con la infusión amigdal ar de propranolol y que la exposición ante una agente estresante inespecífico produce un aumento de reactividad de NA amigdal ar, concluimos que la NA en amígdala tiene un importante papel en la sintomatología de la hiperactivación en este modelo de TEPT en ratas.

AGRADEMIENTOS

Agradezco la ayuda del profesor Gregorio Segovia Camargo.

BIBLIOGRAFÍA

- Brunetti, M, Sepede, G., Mingoia, G., Catani, C., Ferretti, A., Merla, A., Babiloni, C. 2010. Elevated response of human amygdala to neutral stimuli in mild PTSD: neural correlates of generalized emotional response. *Neuroscience* 168.3: 670-679. doi: 10.1016
- George, S A, Knox D, Curtis AL, Aldridge JW, Valentino RJ, Liberzon I. 2013. Altered locus coeruleus–norepinephrine function following single prolonged stress. *European journal of Neuroscience* 37.6: 901-909. doi:10.1111.

- Geraciotti, TDThomas D.,Dewleen G.Baker, Nosakhare N.E, Scott A.W, Kelly K, AnnB.B, Dennis Schmidt. 2001. CSF norepinephrine concentrations in posttraumatic stress disorder.The American journal of psychiatry 158.8:1227-1230.doi: 10.1016
- Roosendaal, B, Bruce S. McEwen, and Sumantra C. 2009. Stress, memory and the amygdala. Nature Reviews Neuroscience 10.6: 423-433. doi: 10.1038/nrn2651.
- Siegmund, Anja, and Carsten T. Wotjak. 2007. A mouse model of PTSD that distinguishes between conditioned and sensitised fear. Journal of psychiatric research 41.10 848-860. doi: 10.1016
- Stam R. 2007. PTSD and stress sensitisation: a tale of brain and body Part 2: animal models. Neurosci Biobehav Rev;3:558-84. Doi: 10.1016
- Vyas, A., A. G. Pillai, and S. Chattarji. 2004.Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior.Neuroscience 128.4 667-673. doi:10.1016