

INVESTIGACIÓN ORIGINAL

Efecto de la alopregnanolona sobre la ansiedad en ratas con separación materna durante la lactancia

The effect of allopregnanolone on anxiety induced in rats separated from their young during breastfeeding

Irene Riveros-Barrera¹ • Zulma Dueñas²

Recibido: 29/08/2013 Aceptado: 08/10/2013

¹ Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

² Departamento Ciencias Fisiológicas. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Correspondencia: Zulma Dueñas. Dirección: Universidad Nacional De Colombia Avenida Carrera 30 No. 45-01. Facultad de Medicina, Oficina 430. Teléfono: +57 3165000 ext. 15057. Bogotá, Colombia. Correo electrónico: zjduenasg@unal.edu.co

| Resumen |

Antecedentes. La relación madre-hijo y el cuidado parental al recién nacido son fundamentales en el desarrollo fisiológico y emocional de los individuos. Evidencias asocian el estrés temprano con el desarrollo de enfermedades mentales. El modelo de separación materna durante la lactancia (SMDL) se ha utilizado para inducir estrés temprano en ratas y estudiar efectos a largo plazo. Diversos estudios han encontrado que, en ratas separadas de sus madres, disminuyen los niveles del receptor GABA-A y esos bajos niveles están asociados a comportamientos ansiosos.

Objetivo. Evaluar el efecto de la alopregnanolona, un neuroesteroide agonista del receptor GABA-A, sobre la ansiedad inducida por SMDL.

Materiales y métodos. Se utilizaron 30 ratas Wistar divididas en dos grupos, uno control y uno experimental (SMDL). La SMDL se realizó desde el día postnatal 1 hasta el día postnatal 21, durante 180 minutos en la mañana y 180 minutos en la tarde. Desde el día 22 los sujetos se alojaron en cajas por sexo y tratamiento y continuaron su desarrollo normal hasta el día 60, en el que se hizo la inyección con alopregnanolona y la prueba comportamental en el laberinto en cruz elevado.

Resultados. El estrés crónico causado por la SMDL afecta el comportamiento de los individuos, perfil comportamental que varía dependiendo del sexo. Se encontró que los machos presentan comportamientos más ansiosos que las hembras, las cuales a su vez muestran más actividad locomotora y exploración

Conclusiones. Al aplicar alopregnanolona el repertorio comportamental varía en los animales con SMDL; estos resultados sugieren que la alopregnanolona, a través de su unión al receptor GABA-A, puede llegar a revertir los efectos de la separación materna, sobre los comportamientos relacionados con ansiedad.

Palabras clave: Separación materna, Alopregnanolona, Laberinto en Cruz Elevado, Estrés Fisiológico, Ansiedad, Receptores de GABA, Acido gamma-aminobutírico, Conducta (DeCS).

Riveros-Barrera I, Dueñas Z. Efecto de la alopregnanolona sobre la ansiedad en ratas con separación materna durante la lactancia. Rev. Fac. Med. 2014;62:229-236.

Summary

Background. The mother-child relationship and parental care for the newborn are fundamental in individuals' physiological and emotional development. Evidence-based research associates early stress with the development of mental illnesses. Maternal separation during lactation (MSDL) models have been used to induce early stress in rats and for studying the long-term effects of such intervention. Several studies have found decreased GABA-A receptor levels in separated rats from their mothers and such low levels have been associated with anxious behaviour.

Objective. Assessing the effect of allopregnanolone (a GABA-A receptor neurosteroid agonist) on MSDL-induced anxiety.

Materials and methods. Thirty Wistar rats were divided into two groups: control and experimental (MSDL). SMDL occurred for 180 minutes in the morning and 180 minutes in the afternoon. Subjects were housed in boxes by gender and treatment following day 22 and their normal development was allowed to continue until day 60 when they were injected with allopregnanolone and underwent a behavioural test in an elevated plus maze (EPM).

Results. Chronic stress induced by MSDL affected individuals' behaviour, their behavioural profile varying according to their gender. Males exhibited more anxious behaviour than females who engaged in more locomotive and exploratory activity.

Conclusions. MSDL animals' behavioural repertoire varied due to the allopregnanolone injection, suggesting that the effect of allopregnanolone due to GABA-A receptor interaction could reverse the effects of maternal separation on anxiety-related behaviour.

Key words: Maternal Separation; GABA A receptor; allopregnanolone, elevated plus maze, stress; Anxiety; Receptors, GABA; gamma-Aminobutyric acid; Behavior (MeSH).

.....
Riveros-Barrera I, Dueñas Z. The effect of allopregnanolone on anxiety induced in rats separated from their young during breastfeeding. *Rev. Fac. Med.* 2014;62:229-236.

Introducción

Estudios en humanos sugieren que experiencias tempranas adversas, afectan el desarrollo de la corteza prefrontal y del cíngulo anterior (1,2), lo que, probablemente, contribuye a la génesis de algunos trastornos psiquiátricos. Existen evidencias epidemiológicas en las que se asocia el estrés temprano con el desarrollo de enfermedades mentales como trastornos de ansiedad, depresión, abuso de sustancias y trastornos de comportamiento (3). La literatura describe cómo la relación madre-hijo y el cuidado de los padres con el recién nacido cumplen un papel importante (4), pues durante las primeras etapas de la vida se estructuran las bases fundamentales del desarrollo integral del organismo y se forman y regulan diversos mecanismos fisiológicos que influyen en el desarrollo físico y emocional (5). Se ha reportado que niños que han sufrido de abuso o rechazo por parte de sus padres son más susceptibles a desarrollar diversas psicopatologías, mientras que una estrecha y buena relación entre padres e hijos se asocia con un mejoramiento en el manejo del estrés (6),

El estudio de los efectos comportamentales y neurobioquímicos que estas situaciones causan al ser humano es restringido; por tanto, el uso de modelos experimentales,

que semejen situaciones reales de nuestro entorno como la separación materna durante la lactancia (SMDL), es fundamental. Son diversos los protocolos de separación materna y se han reportado hallazgos controversiales. Resultados previos de laboratorio utilizando un modelo en ratas de SMDL, en el cual la separación se hace por dos periodos de tres horas durante la fase oscura del ciclo, cuando las ratas son más activas, mostraron que, dependiendo del sexo, en la edad adulta se presentan alteraciones en comportamientos relacionados con ansiedad y diferencias en la expresión de receptores GABA A (7).

GABA A es uno de los subtipos de receptores sobre los que actúa el Ácido Gamma Amino Butírico (GABA), principal inhibidor de la neurotransmisión en el sistema nervioso central. Este receptor controla un canal de cloro (Cl-) y su excitación produce la entrada de iones Cl-, aumentando la concentración de cargas negativas al interior de la membrana, lo que lleva a su hiperpolarización y hace menos probable la propagación del potencial de acción. GABA A está formado por cinco subunidades y tiene tres dominios de unión: uno al que se une el neurotransmisor GABA, otro hipnosedante al que se unen el alcohol y los barbitúricos y uno ansiolítico, al que se unen las benzodiazepinas. Las sustancias que se unen al sitio hipnosedante aumentan directamente la entrada de iones Cl- y por la tanto causan el mismo efecto que GABA, es decir son agonistas del neurotransmisor, mientras que las benzodiazepinas al unirse al sitio ansiolítico aumentan la unión de GABA al receptor (8).

Estudios previos también han reportado que animales sometidos a SMDL presentan una disminución en los comportamientos relacionados con ansiedad en las hembras, mientras que en los machos se incrementan los comportamientos relacionados con el conflicto exploración/evitación (9,10). Por otra parte, se ha descrito que en la rata los agentes agonistas GABAérgicos promueven un incremento de la función del GABA y una reducción de los indicadores de ansiedad en pruebas conductuales (11). Con base en estos antecedentes, el objetivo de este trabajo fue evaluar si la inyección de allopregnanolona, un neuroesteroide agonista del receptor GABA A, que tiene propiedades ansiolíticas y anticonvulsivantes (12), podría revertir el efecto de ansiedad inducido por la SMDL.

Materiales y métodos

Separación materna

Se utilizaron 30 ratas albinas de la cepa Wistar, que permanecieron con ciclo invertido 12h luz/oscuridad, luces

encendidas a las 7pm, con acceso libre a comida y agua, en un cuarto con temperatura y humedad controlados. El protocolo de separación fue de 180 minutos durante la mañana y 180 minutos durante la tarde, durante todo el periodo de lactancia, desde el día postnatal 1 hasta el 21. El día postnatal 22 los sujetos se alojaron por sexo y tratamiento (cinco individuos por caja) y continuaron su desarrollo normal hasta el día 60 en, el que se hizo la inyección farmacológica y la prueba comportamental. Las hembras fueron cicladas para controlar la etapa del ciclo estral en la que se encontraban y evitar que los resultados de comportamiento se debieran a utilizarlas en diferentes estados del ciclo. Todas fueron testadas cuando estaban en diestro.

Prueba comportamental

El laberinto en cruz elevado consiste en un instrumento elevado a 50 cm del suelo, con dos brazos abiertos de 50x10cm y dos cerrados de 50x10x40cm y techo descubierto, arreglado de tal modo que los brazos abiertos se oponen al igual que los cerrados. Habitualmente, los animales muestran cierta preferencia por los brazos cerrados, aventurándose esporádicamente a explorar los brazos abiertos, donde el sujeto se encuentra más expuesto (13). En cada sesión experimental, los animales se colocaron en forma individual en el centro del laberinto y se filmó su comportamiento durante cinco minutos de exploración libre. Todas las sesiones se grabaron utilizando una videocámara conectada con un monitor y un DVD en otra sala. Se registraron los siguientes parámetros:

- **Medidas Estándares:** a) porcentaje de entradas a los brazos abiertos, b) tiempo total de permanencia en el centro del laberinto, c) entradas totales a ambos brazos.
- **Medidas Comportamentales:** a) duración total de los estiramientos, b) duración total de los levantamientos, c) duración total del hundimiento de la cabeza, d) duración total de acicalamientos.

Estas medidas se utilizaron debido a que ha sido reportada su validez, puesto que solo los fármacos ansiolíticos mejoran la frecuencia de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos. La codificación de los comportamientos se realizó por medio del programa X-ploRat 2005.

Prueba farmacológica

Con base en los datos reportados previamente (14) y en los obtenidos mediante realización de una prueba piloto, se utilizaron dos dosis de alopregnanolona: 0,5 y 1,0 mg/kg. La dosis se aplicó vía intraperitoneal disuelta en 2-hidroxypropyl-

γ -cyclodextrin al 35% en solución salina, de acuerdo con las indicaciones del proveedor (Sigma). La inyección se hizo una hora antes de la prueba comportamental. Para este estudio se utilizaron cuatro grupos distribuidos así: uno control, no separado, para la verificación de comportamientos sin separación materna (tres hembras y cuatro machos); uno control sin separación materna al que se le aplicó vehículo (tres hembras y cuatro machos); y dos experimentales (SMDL) cada uno con una de las dosis de alopregnanolona, dosis 0,5 mg/kg (cuatro hembras y cuatro machos), dosis 1,0 mg/kg (cuatro hembras y cuatro machos). Como ya se mencionó las hembras fueron cicladas y el experimento se realizó cuando estaban en diestro.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se realizaron comparaciones entre los promedios de hembras y machos y de los grupos control, control con vehículo, experimental con dosis 0,5 mg/kg y experimental con dosis 1,0 mg/kg, así como con la prueba t-Student. Se utilizó el programa SigmaPlot 10.0.

Resultados

Peso corporal durante el protocolo de separación

Se pesaron las 30 ratas durante los primeros 21 días postnatales. Se encontraron diferencias significativas entre los pesos de las ratas del grupo control (n=14) y el grupo con SMDL (n=16) en los días postnatales 18 (P=0,003), 20 (P=0,003) y 21 (P=<0,001) (Figura 1).

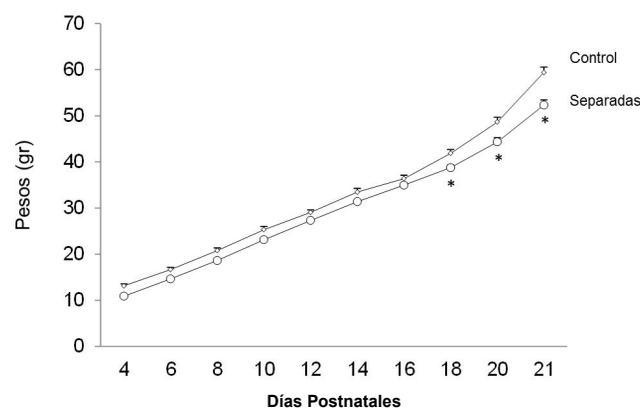


Figura 1. Peso corporal vs. peso del cerebro. Fuente: autores.

Nota: Promedio del peso corporal total de los grupos de ratas control (círculos pequeños) y separadas (círculos grandes), durante los primeros 21 días postnatales, grupo control y grupo con SMDL. * Diferencia significativa en t-Student test. P<0,05.

Medidas estándares

Como se muestra en la figura 2, las hembras de los cuatro grupos tienen un mayor porcentaje de entrada a los brazos abiertos (BA) en comparación con los machos. Se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras de los grupos experimentales con dosis 0,5 mg/kg ($P=0,009$) y 1,0 mg/kg ($P=0,001$), evidenciándose menor porcentaje de entradas a los BA en los machos. Los machos del grupo control y del grupo experimental con dosis 1,0 mg/kg presentaron diferencias significativas ($P=0,0009$).

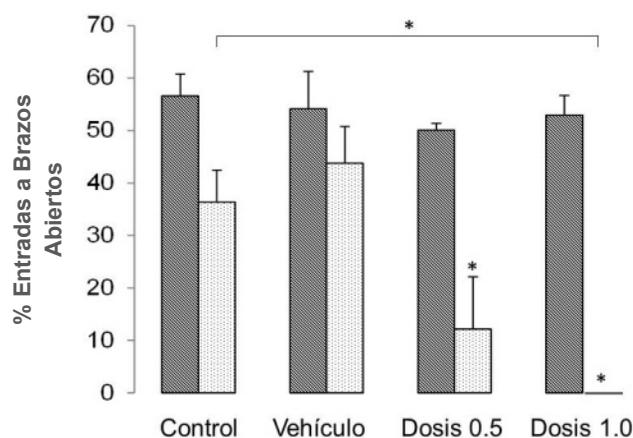


Figura 2. Comportamiento en brazos abiertos. Fuente: autores. Nota: Porcentaje de entradas a los brazos abiertos en el laberinto en cruz elevado para hembras (oscuro) y machos (claro) de los grupos control, control con vehículo, experimental con dosis 0,5 mg/kg y experimental con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona. * Diferencia significativa en t-Student test. $P<0,05$.

En la figura 3 se muestra el tiempo de permanencia de los sujetos en el centro del laberinto. Se encontraron diferencias significativas entre los machos y hembras del grupo experimental con dosis 1,0 mg/kg ($P>0,001$); los machos permanecieron menos tiempo en el centro en comparación con las hembras. Así mismo, se encontraron diferencias significativas tanto en hembras ($P=0,013$) como en machos ($P=0,001$), entre los grupos control y experimental con dosis 1,0 mg/kg; las hembras aumentaron su tiempo de permanencia en el centro del laberinto con esta dosis, mientras que los machos disminuyeron el tiempo de permanencia, indicando una leve reducción de ansiedad, pero no lo suficiente como para permitirles explorar los brazos abiertos.

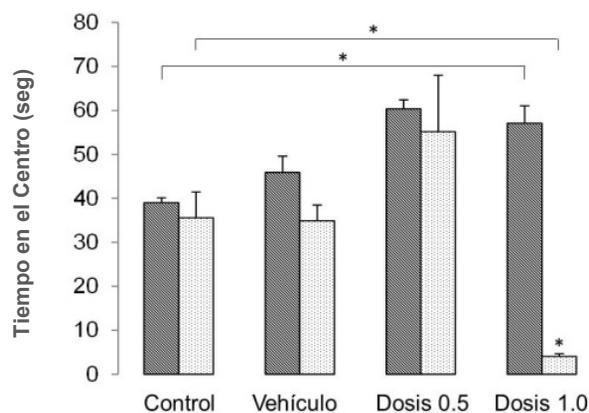


Figura 3. Comportamiento en el Centro del Laberinto. Fuente: autores. Nota: Tiempo de permanencia en el centro del laberinto en cruz elevado para hembras (oscuro) y machos (claro) de los grupos control, control con vehículo, experimental con dosis 0,5 mg/kg y experimental con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona. * Diferencia significativa en t-Student test. $P<0,05$.

En la figura 4 se representa el número total de entradas a todos los brazos del laberinto. Se observó que las hembras de todos los grupos entran más veces a todos los brazos, en comparación con los machos. Se encontraron diferencias significativas en el número total de entradas entre las hembras y los machos del grupo con vehículo ($P=0,003$) y de los grupos experimentales con dosis 0,5 mg/kg ($P=0,035$) y 1,0 mg/kg ($P>0,001$). Se hallaron también diferencias significativas entre los machos del grupo control y del grupo experimental con dosis 1,0 mg/kg ($P=0,001$).

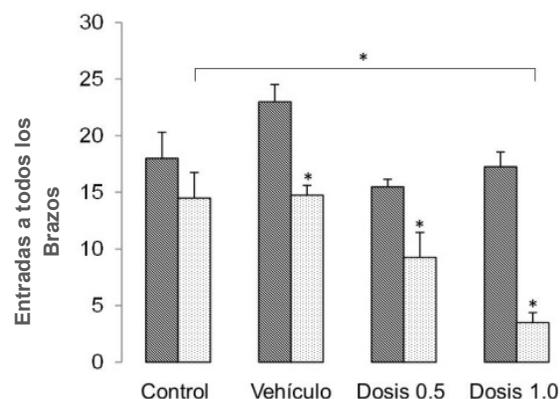


Figura 4. Comportamiento Laberinto en Cruz Elevado. Fuente: autores. Nota: Número total de entradas a todos los brazos en el laberinto en cruz elevado para hembras (oscuro) y machos (claro) de los grupos control, control con vehículo, experimental con dosis 0,5 mg/kg y experimental con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona. * Diferencia significativa en t-Student test. $P<0,05$.

Medidas comportamentales

En la figura 5 está graficado el tiempo de inmersión de la cabeza. Se observó que las hembras presentaron más tiempo de inmersión de la cabeza que los machos. Se encontraron diferencias significativas entre las hembras y los machos del grupo experimental 1,0 mg/kg ($P=0,0003$), en el que los machos tuvieron menos tiempo en inmersiones. Se encontraron diferencias significativas entre las hembras del grupo control y el grupo experimental con dosis 1,0 mg/kg ($P=0,005$); las hembras del grupo experimental presentaron mayor tiempo de inmersión. También se encontraron diferencias significativas entre los machos del grupo control y los machos de los grupos experimentales con dosis 0,5 mg/kg ($P=0,03$) y 1,0 mg/kg ($P=0,02$), siendo mayor el tiempo de inmersión de los machos del grupo control (Figura 5).

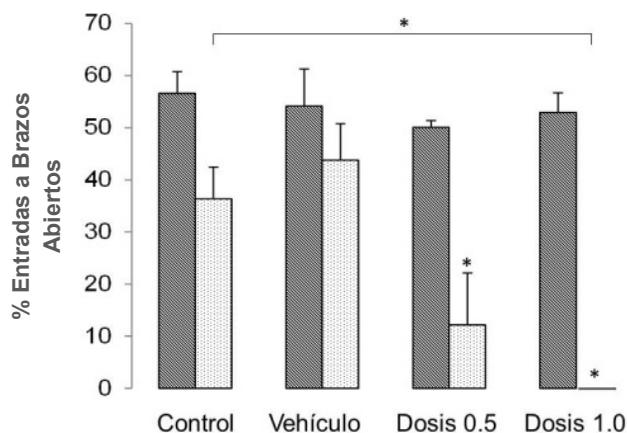


Figura 5. Inmersión de la cabeza. Fuente: autores.

Nota: Tiempo total de inmersión de la cabeza en el laberinto en cruz elevado para hembras (oscuro) y machos (claro), de los grupos control, control con vehículo, experimental con dosis 0,5 mg/kg y experimental con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona. * Diferencia significativa en t-Student test. $P<0,05$.

La figura 6 representa el tiempo de estiramientos. Los machos de todos los grupos se estiraron por más tiempo en comparación con las hembras; se encontraron diferencias significativas entre los machos y las hembras del grupo experimental con dosis 1,0 mg/kg ($P=0,005$). Así mismo, se encontraron diferencias significativas entre los grupos control y experimental con dosis 1,0 mg/kg, tanto en machos ($P=0,001$) como en hembras ($P=0,01$); los primeros presentaron más tiempo de estiramientos con la dosis 1,0 mg/kg, mientras que las hembras disminuyeron el tiempo de estiramientos con esta dosis. Este comportamiento está asociado al conflicto exploración/evitación que, en este caso, se presenta más en los machos.

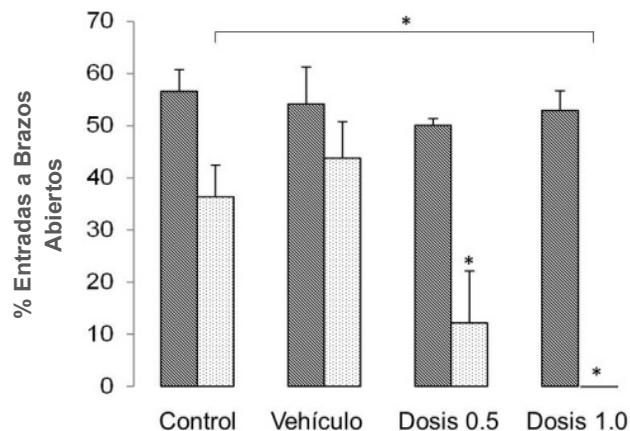


Figura 6. Comportamiento en brazos abiertos. Fuente: autores.

Nota: Tiempo total de estiramientos el laberinto en cruz elevado para hembras (oscuro) y machos (claro), de los grupos control, control con vehículo, experimental con dosis 0,5 mg/kg y experimental con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona. * Diferencia significativa en t-Student test. $P<0,05$.

También se observó que los grupos experimentales con las dos dosis de alopregnanolona de machos y hembras no presentaron acicalamientos. Lo que indicaría que tanto machos como hembras invirtieron el tiempo en explorar el laberinto y en otros comportamientos. Para la medida de acicalamientos no se encontraron diferencias significativas.

Discusión

El protocolo de separación materna durante la lactancia ha sido ampliamente utilizado para inducir estrés crónico durante la primera etapa de vida en las ratas y estudiar sus efectos a largo plazo. En este caso, se evaluaron, a través de una prueba comportamental en el laberinto en cruz elevado, el efecto de la inyección de alopregnanolona sobre la ansiedad, para determinar si la alopregnanolona revierte los efectos de la SMDL en machos y hembras.

Inicialmente se evaluó el peso corporal de los sujetos durante el proceso de separación materna de los grupos SMDL y control. En la literatura se ha reportado que el estrés influye en el comportamiento alimenticio y al parecer el nivel de estrés puede influir en el aumento o la disminución de la ingesta o en la preferencia alimenticia (15). En estudios con protocolos de separación de seis horas continuas (16,17) o de 24 horas continuas (18,19) se encontraron diferencias en el peso de los individuos separados, lo que sugiere una alteración en el proceso nutricional. En estudios previos (9,20), con el mismo

protocolo usado, no se encontraron variaciones significativas en cuanto al peso; no obstante, en este estudio, las ratas con SMDL presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control, a partir del día 18 de separación.

Dado que para este momento las ratas ya complementan su alimentación con suplemento sólido, probablemente las ratas separadas prefieran seguir lactando y comer menos alimento sólido, probablemente en busca de suplir el tiempo de separación. Lo anterior precisa tener en cuenta que la lactancia implica no solo la succión por parte de la cría, sino la interacción con la madre, importante para el desarrollo del sujeto. Este vínculo interrumpido dos veces al día, eventualmente buscaría ser recuperado por ambos. Puesto que, durante los últimos días, los dos grupos control y SMDL tenían alimentación ad libitum. Para futuros estudios habría que tener en cuenta si el estrés causado por la separación empieza a tener sus efectos a corto plazo en la alimentación.

Posteriormente se evaluó la ansiedad en los grupos control y con SMDL. En la literatura se ha reportado que el estrés crónico disminuye los niveles cerebrales de GABA y esta disminución se ha asociado con estados ansiosos y depresivos (21,22). Aunque la ansiedad resulta un mecanismo natural que prepara el sistema de “lucha y huida” para afrontar una dificultad, puede no ser siempre un proceso adaptativo normal; por el contrario, se puede tornar desadaptativa y patológica (23).

La administración de fármacos ansiolíticos con acciones agonistas GABAérgicas como las benzodiacepinas, disminuyen algunos síntomas de la ansiedad y la depresión (24). Así mismo, las hormonas esteroides como la alopregnanolona ejercen acciones ansiolíticas por su papel agonista. Se ha encontrado que es mucho más potente que las benzodiacepinas (25), lo que lleva a necesitar una dosis mucho menor de alopregnanolona para cumplir el mismo efecto.

Los resultados obtenidos comprueban que, en condiciones normales, las hembras son menos ansiosas que los machos, porque presentaron mayor porcentaje de entrada a los brazos abiertos. El laberinto en cruz tiene como fundamento los comportamientos de evitación incondicionada que presentan las ratas hacia los espacios abiertos (26); en la exploración natural del laberinto hay tendencias claras de los animales por permanecer mayor tiempo dentro de los brazos cerrados. Por esta razón se ha encontrado que esta medida de permanencia en los brazos abiertos está asociada a perfiles ansiolíticos.

Roman y cols., describen que, al parecer, las hembras tienen la tendencia natural a explorar y a moverse con mayor libertad en espacios nuevos en comparación con los machos, razón

por la cual las hembras presentan perfiles comportamentales menos asociados a ansiedad (27). Adicionalmente, para los machos los espacios abiertos y nuevos resultan más aversivos que para las hembras. Lehman y cols., encontraron que los machos son más susceptibles al miedo que las hembras, lo que los hace más vulnerables al estrés (19). Así mismo, los machos control presentaron un perfil menos ansioso que los machos SMDL con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona, quienes tuvieron un menor porcentaje de entradas a los brazos abiertos; esto indicaría que el sometimiento a estrés crónico puede aumentar el grado de ansiedad en los machos, incluso con dosis de ansiolítico.

Los machos SMDL con dosis 1,0 mg/kg permanecieron menos tiempo en el centro del laberinto en comparación con las hembras. Esta medida refleja el conflicto exploración/evitación del individuo, el cual, al permanecer en el centro, estaría evaluando si explorar los brazos abiertos o permanecer en la seguridad de los brazos cerrados. En los machos con la dosis 1,0 mg/kg esta disminución de tiempo en el centro podría indicar una reversión de los efectos de la SMDL. León y cols., muestran cómo los machos experimentales pasan mayor tiempo en el centro debido al estrés crónico causado (20), en el presente estudio, con la dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona, este comportamiento se vio revertido, pues los machos permanecieron más tiempo en los brazos cerrados.

Las hembras de todos los grupos presentaron mayor número de entradas totales a los brazos del laberinto en relación con los machos. Se encontraron también diferencias significativas entre los machos del grupo control y del grupo experimental con dosis 1,0 mg/kg, lo que sugiere que las hembras son más activas que los machos y que los machos con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona; estos últimos presentan menor actividad general. Estas diferencias entre machos y hembras no son aprendidas y se encuentran asociadas a mecanismos neurobiológicos y endocrinos innatos propios de cada sexo, los cuales están involucrados en la modulación del estrés y la respuesta ante amenazas (28). De forma que las hembras suelen mostrar mayores niveles de hormona adrenocorticotropina (ACTH) y corticosterona y mayor actividad en las pruebas comportamentales que los machos.

La inmersión de la cabeza ha sido un comportamiento asociado con baja ansiedad, ya que el individuo explora por fuera del laberinto dejando la cabeza en el vacío. En este estudio, las hembras presentaron más tiempo de inmersión de la cabeza que los machos, encontrando diferencias significativas entre las hembras y los machos del grupo experimental inyectado con 1,0 mg/kg del fármaco, en el que los machos tuvieron menos tiempo en inmersiones. Este efecto apoya los datos de permanencia en los brazos abiertos y

comprueba que las hembras presentan un perfil menos ansioso que los machos. Así mismo, las hembras SMDL con dosis 1,0 mg/kg de alopregnanolona presentaron mayor tiempo de inmersión que las hembras del grupo control, resultado que sugiere que esta dosis de alopregnanolona cumple su función ansiolítica.

Los estiramientos hacen referencia a cuando el animal extiende su cuerpo para explorar el laberinto sin moverse del sitio en el que se encuentra, comportamiento relacionado al conflicto exploración/evitación, en el que el animal quiere explorar el lugar, pero sin arriesgarse. En el estudio se encontró que los machos de todos los grupos presentaron mayor tiempo de estiramientos que las hembras, las cuales invirtieron más tiempo en la exploración del laberinto y sus alrededores, resultado coherente con otros reportes de la literatura en los que se hace referencia a que los machos presentan un perfil más de tipo ansiogénico.

Además, la actividad locomotora reflejada en el número de entradas totales se ve incrementada tanto en machos separados como en hembras separadas, resultados que concuerdan con hallazgos previos reportados en la literatura, que indican que la separación materna incrementan la actividad locomotora (29). Se encontraron diferencias significativas entre los grupos control y SMDL con dosis 1,0 mg/kg, tanto en machos como en hembras; los machos SMDL presentaron más tiempo de estiramientos con la dosis 1,0 mg/kg del fármaco, mientras que las hembras SMDL disminuyeron el tiempo de estiramientos con esta dosis, lo que indicaría que las hembras con esta dosis de alopregnanolona están menos ansiosas y prefieren explorar.

Como ya se mencionó, la alopregnanolona se une al dominio de unión hipnosedante del receptor GABA A, aumentando directamente la entrada de iones Cl⁻, lo que llevará a la hiperpolarización de la membrana, causando el mismo efecto que el neurotransmisor GABA, por lo que el fármaco actúa como agonista.

Conclusión

En conclusión, con estos resultados se comprobó que el estrés crónico causado por la separación materna durante la lactancia afecta el comportamiento de los individuos, perfil comportamental que varía dependiendo del sexo. Los machos presentaron comportamientos más ansiosos que las hembras, las cuales a su vez mostraron más actividad locomotora y exploración. Más importante aun, los presentes resultados demuestran que, al aplicar un neuroesteroide agonista de GABA: alopregnanolona, cuya principal función es ansiolítica, el repertorio comportamental varía en los animales

con SMDL. Los resultados sugieren que la alopregnanolona puede llegar a revertir los efectos de la separación materna, efecto que pudiera estar mediado por el receptor GABA A.

Conflicto de interés

Ninguno declarado por las autoras.

Financiación

Este trabajo se desarrolló con financiación de la Vicedecanatura de Investigaciones de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Código 11797.

Agradecimientos

Las autoras agradecen el apoyo y asistencia técnica de Christian Briceño y David Moreno, estudiantes de Medicina, quienes fueron financiados como semilleros de investigación de la facultad.

Referencias

1. Law AJ, Pei Q, Feldon J, Pryce CR, Harrison PJ. Gene expression in the anterior cingulate cortex and amygdala of adolescent marmoset monkeys following parental separations in infancy. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2009;6:761-72.
2. Helmeke C, Poeggel G, Braun K. Differential emotional experience induces elevated synaptic densities on basal dendrites of pyramidal neurons in the anterior cingulate cortex of Octodondegus. *Neuroscience.* 2001;104:927-31.
3. Gilmer W& McKinney W. Early Experience and depressive disorders: Human and non-human primate studies. *J Affect Disord.* 2003;75:97-113.
4. Levine S. The effects of differential infantile stimulation on emotionality at weaning. *Can J Psychol.* 1959;13:243-7.
5. Camargo-Ramos CM, Pinzón-Villate GY. La Promoción de la Salud en la Primera Infancia: Evolución del concepto y su aplicación en el contexto internacional y nacional. *Rev. Fac. Med.* 2012;60:62-74.
6. Heim C, Newport DJ, Miller AH, Nemeroff CB. Long-term neuroendocrine effects of childhood maltreatment. *JAMA.* 2000;284:2321.
7. Moreno-Hernández L, Lamprea M, Dueñas, Z. Early Maternal separation (EMS) affects differentially anxiolytic behavior on male and female rats. *Annual Meeting. Neurosciences.* 2007;P-841.5.
8. Kolb B, Ian Q. *Neuropsicología Humana.* Ed. Médica Panamericana; 2006.

9. **Moreno-Hernández L, Lamprea M, Duenas Z.** Diferencias en los comportamientos asociados con la ansiedad de ratas macho y hembra expuestas a un protocolo de estrés crónico por separación materna temprana. *Suma Psicológica.* 2009;16:31-43.
10. **León DA.** Aproximación preliminar al estudio de los mecanismos que inducen ansiedad en ratas que han sufrido estrés postnatal. Tesis de Maestría en Neurociencias. Universidad Nacional; 2010.
11. **Slotten HA, Kalinichev M, Hagan JJ, Marsden CA, Fone KC.** Long-lasting changes in behavioural and neuroendocrine indices in the rat following neonatal maternal separation: gender-dependent effects. *Brain Res.* 2006;1097:123-32.
12. **Rodríguez-Landa JF, Contreras CM.** Algunos datos recientes sobre la fisiopatología de los trastornos por ansiedad. *Annu Rev Biomed.* 1998;9:181-91.
13. **Carobreza AP, Bertogliob LJ.** Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29:1193-205.
14. **Bowen CA, Gatto GJ, Grant KA.** Assessment of the multiple discriminative stimulus effects of ethanol using an ethanol-pentobarbital-water discrimination in rats. *Behav Pharmacol.* 1997;8:339-52.
15. **Torres SJ, Nowson CA.** Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition.* 2007;23:887-94.
16. **Jiménez-Vasquez PA, Mathe AA, Thomas JD, Riley EP, Ehlers CL.** Early maternal separation alters neuropeptide Y concentrations in selected brain regions in adult rats. *Brain Res Dev Brain Res.* 2001;131:149-52.
17. **Rhees RW, Lephart ED & Eliason D.** Effects of maternal separation during early postnatal development on male sexual behavior and female reproductive function. *Behav Brain Res.* 2001;123:1-10.
18. **Cirulli F, Micera A, Alleva E, Aloe L.** Early maternal separation increases NGF expression in the developing rat hippocampus. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 1998;59:853-8.
19. **Lehmann J, Pryce CR, Bettschen D, Feldon J.** The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. *Pharmacology Biochem Behav.* 1999;64(4):705-15.
20. **León DA, Dueñas Z.** Effects of early maternal separation on the performance in the elevated plus maze in adult rats. *Acta Biológica Colombiana.* 2012;17:129-42.
21. **Beleboni RO, Carolino RO, Pizzo AB, Castellan-Baldan L, Coutinho-Netto J, dos Santos WF, Coimbra NC.** Pharmacological and biochemical aspects of GABAergic neurotransmission: pathological and neuropsychobiological relationships. *Cell Mol Neurobiol.* 2004;24:707-28.
22. **Macdonald RL, Gallagher MJ, Feng HJ, Kang J.** GABA(A) receptor epilepsy mutations. *Biochem Pharmacol.* 2004;68:1497-506.
23. **Chica HL.** Relación entre los Trastornos por Ansiedad y Alteraciones del Oído Interno. *Rev. Fac. Med.* 2010;58:60-70.
24. **Jonas JM, Cohon MS.** A comparison of the safety and efficacy of alprazolam versus other agents in the treatment of anxiety, panic and depression: a review of the literature. *J Clin Psychiatry.* 1993;54:25-48.
25. **Díaz R.** The Neurosteroid 3 α -Hydroxy-5 α -Pregnan-20-One Induces Cytoarchitectural Regression in Cultured Fetal Hippocampal Neurons. *J Neurosci.* 1994;14:2763-74.
26. **Pellow S, Chopin P, File Se, Briley M.** Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods.* 1985;14:149-67.
27. **Roman E, Gustafsson L, Berg M, Nylander I.** Behavioral profiles and stress-induced corticosteroid secretion in male Wistar rats subjected to short and prolonged periods of maternal separation. *Horm Behav.* 2006;50:736-47.
28. **Blanchard DC, Griebel G, Blanchard RJ.** Gender bias in the preclinical psychopharmacology of anxiety: Male models for (predominantly) female disorders. *J Psychopharmacol.* 1995; 9:79-82.
29. **Marín MT, Planeta CS.** Maternal separation affects cocaine-induced locomotion and response to novelty in adolescent, but not in adult rats. *Brain Res.* 2004;1013:83-90.