

## Impacto del confinamiento sobre crisis convulsivas y memoria emocional en ratas Wistar

Carlos Arturo Conde<sup>1</sup>, Alberth Jonnathan Carreño<sup>2</sup>

### RESUMEN

**Introducción:** Hallazgos en diferentes laboratorios y casos clínicos, muestran un marcado solapamiento comportamental, fisiológico y neuroanatómico de la ansiedad y la epilepsia, además de presentar en muchos casos un aumento o disminución de sus manifestaciones con los mismos fármacos. Por tal motivo, el presente trabajo pretendió evaluar el efecto de diferentes tiempos de confinamiento de ratas en un brazo abierto del laberinto en cruz elevado, como una estrategia para inducir un estado de tipo ansioso, sobre la severidad de las crisis convulsivas inducidas por PTZ y la memoria emocional. **Metodología:** Se evaluaron 47 ratas Wistar machos divididos en tres grupos según la duración del confinamiento en un brazo abierto del LCE (0, 5 ó 10 s). Inmediatamente después del confinamiento, la mitad de cada grupo recibió SS y la otra mitad PTZ (I.V.) seguido de 30 minutos de evaluación de comportamientos convulsivos. Tres días después, los animales fueron evaluados en exploración libre sobre el LCE. **Resultados:** De manera global, no se observaron diferencias significativas entre grupos en la exploración del LCE en la segunda sesión experimental, pero se encontró que los animales confinados en el laberinto presentaron menores manifestaciones convulsivas que los no confinados. **Conclusiones:** En el contexto del actual experimento no se puede concluir que los diversos tiempos de confinamiento más los tratamientos farmacológicos utilizados, influyan significativamente sobre la memoria emocional mientras que en ratas no susceptibles genéticamente a crisis convulsivas como las del experimento, un nivel de estrés/ansiedad moderado, podría inducir resistencia a las crisis convulsivas inducidas por PTZ. *Salud UIS 2008, 40: 202 - 211*

**Palabras clave:** Ansiedad, epilepsia, brazo abierto, pentilentetrazol, estrés

### ABSTRACT

**Introduction:** Findings from different laboratories and clinical cases show a noticeable behavioral, physiological and neuro-anatomical overlapping between anxiety and epilepsy, beside to indicate, in many cases, an increment or diminution of their manifestation to the same drugs. For that question, the current work aimed to evaluate the effects of different confinement time into one open arm of the elevated plus maze, as one strategy to induce an anxiety state, on the severity of seizures crisis induced by PTZ and the emotional memory. **Methodology:** It was evaluated 47 male Wistar rats divided in three groups by confinement time into one open arm of the EPM (0, 5, or 10 s). Immediately after confinement, one half of each group was injected (i.p.) with SS and another with PTZ, followed by 30 minutes of seizure behavioral evaluation. Three days later, the animals were evaluated in free exploration of the EPM. **Results:** In a general way, it was not observed significant differences of explorations behaviors between groups in the second experimental session into the EPM, but it was founded that confined animals presented lower convulsive manifestations than other animals. **Conclusions:** Into the context of this experiment, it can not conclude that different confinement time plus the pharmacological treatment used, influence significantly on the emotional memory, but in rats not genetically seizures susceptible, like rats of this experiment, a moderated level of stress / anxiety, could induce resistances to seizures crises induced by PTZ. *Salud UIS 2008, 40: 202 - 211*

**Keywords:** Anxiety, epilepsy, open arm, pentilentetrazole, stress

1. PhD, MD. Director Grupo de Investigación Neurociencias y Comportamiento UIS-UPB. Profesor Titular Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander

2. Estudiante de Biología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia.

**Correspondencia:** Carlos Conde, E-mail: cconde@uis.edu.co, Carrera 32 No. 29-31, Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander.

**Recibido:** 14 de Agosto de 2008 - **Aceptado:** Diciembre 19 de 2008

## INTRODUCCIÓN

Resultados en diferentes laboratorios muestran un marcado solapamiento comportamental, fisiológico y neuroanatómico de la ansiedad y la epilepsia, siendo especialmente grande la superposición existente a nivel anatómico, encontrando que las dos patologías reclutan substratos como el complejo amigdalino (AC), sustancia gris periacueductal (PAG) y el colículo inferior<sup>1,2,3</sup>. De igual forma, se sabe que tanto la epilepsia como la ansiedad responden en muchos casos a los mismos fármacos<sup>4</sup>, de manera que ambas presentan una disminución de sus manifestaciones cuando se administran benzodiazepinas tales como el diazepam, siendo requeridas dosis más bajas para atenuar las manifestaciones de ansiedad que para las de la epilepsia<sup>5</sup>.

Por otro lado en humanos, se sabe que pacientes con crisis epilépticas presentan una prevalencia en trastornos de ansiedad significativamente más alta que los individuos de la población en general<sup>6</sup>, en este sentido Jacoby y colaboradores (1.996)<sup>7</sup> demostraron que la ansiedad en pacientes con epilepsia esta asociada con un incremento en la actividad convulsiva.

En la búsqueda de un mejor entendimiento de la neurobiología de la ansiedad, se han desarrollado diversas aproximaciones experimentales tales como el laberinto en cruz y T elevados, de transición claro y oscuro e interacción social, con el fin de reproducir algunas características comportamentales, fisiológicas y neurobiológicas observadas en humanos<sup>8,9,10,11</sup>.

El laberinto en cruz elevado (LCE) es uno de los modelos animales de ansiedad generalizada más ampliamente utilizado, principalmente en el estudio de la memoria emocional y “screening” de nuevos psicofármacos<sup>12,13</sup>.

El comportamiento en el LCE puede verse influenciado por diversos factores inherentes al individuo, como la edad o género, así como el ambiente específico en donde se encuentra el laberinto, como lo es el nivel de iluminación<sup>14,15</sup> entre otros. De igual manera, el comportamiento en el LCE también puede ser alterado por variaciones en el procedimiento, como una reexposición al laberinto, el momento en el día en el que se realizan las sesiones experimentales y el confinamiento, bien sea al brazo abierto o al cerrado<sup>16,17</sup>.

Considerando la sobre-posición de sustratos anatómicos y demás elementos comunes en los mecanismos neurobiológicos relacionados con la ansiedad y

epilepsia, se esperaría que los animales expuestos a estímulos ansiogénicos por mayor tiempo, tengan una mayor severidad de crisis convulsivas inducidas por el pentilentetrazol (PTZ) que aquellos que expuestos por un menor tiempo. El presente estudio sometió a consideración esta hipótesis, al tiempo que evaluó el impacto mnemónico a largo plazo producto de diferentes tiempos de confinamiento al BA.

## MATERIALES Y METODOS

### Animales

Fueron utilizadas Ratas Wistar macho provenientes del bioterio de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, con peso promedio de  $250 \pm 40$  gramos y 4 meses de edad, alojadas en jaulas de metal (seis animales en cada una) durante los cinco días previos al comienzo del experimento. Un día antes de la primera sesión se les marcó con un código de colores (en la base de la cola) y posteriormente fueron pesadas.

Los animales tuvieron acceso a comida y agua *ad libitum*, mantenidos bajo temperatura controlada ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ), humedad de  $65\% \pm 5$ , ciclos de luz / oscuridad de 12 horas siendo encendida la luz a las 7 horas.

Los experimentos fueron ejecutados entre las 13 y las 18 horas. El tratamiento de los animales contó con la aprobación del comité de ética de la Universidad Industrial de Santander (Facultad de salud) acogiéndose a la resolución 8430 de 1993 (Título V) y a la ley 84 de 1989.

### Aparatos

#### Laberinto en cruz elevado (LCE)

Es un dispositivo construido en madera, con cuatro brazos dispuestos en cruz, cada uno de ellos mide 50 centímetros de longitud y 12 centímetros de ancho, elevados 50 centímetros del suelo. Dos de sus brazos poseen paredes laterales de 40 centímetros de altura, brazos cerrados (BC), mientras que los restantes dos brazos poseen pestañas laterales de acrílico de 2 centímetros de altura, brazos abiertos<sup>17</sup>. Esta localizado en un cuarto con condiciones ambientales similares a las del bioterio, con un nivel de iluminación de 276 lux en el centro del laberinto; este cuarto está dotado de un sistema de circuito cerrado de televisión, permitiendo registrar y grabar los compartimientos de cada animal desde un cuarto contiguo, del cual esta separado por una pared que proporciona una amortiguación acústica al mismo.

En la primera sesión, para efectos del confinamiento, la salida del BA fue clausurada por una cartulina negra, el brazo confinado fue dividido en 3 regiones virtuales sobre la proyección del laberinto que se obtuvo en la pantalla del televisor. Estas regiones se denominaron lugar 1, 2 y 3, en donde el lugar 1 corresponde al tercio proximal a la pared que obstruyó la salida del brazo, el lugar 2 corresponde al tercio medio y el lugar 3 al tercio distal.

**Fármacos**

El pentilentetrazol (PTZ) fue descrito inicialmente como un fármaco convulsivante en humanos <sup>18</sup>, sin embargo hoy en día es reconocido también como un fármaco ansiogénico en dosis subconvulsivas <sup>19</sup>. Fue administrado por vía intraperitoneal en dosis de 40 mg/kg en volumen de 1 ml/kg. A manera de control se utilizaron inyecciones intraperitoneales de solución salina al 0,9% (p/v).

**Caja de acrílico**

Para observar los comportamientos convulsivos, las ratas fueron colocadas en una caja transparente de acrílico (30x30x40cm) en donde se filmaron sus comportamientos después de la inyección de PTZ o vehículo (solución salina), para la posterior determinación de los comportamientos convulsivos según la escala de Racine1.972<sup>20,21</sup>.

**Tabla 1.** Escala con los comportamientos asociados a la severidad de las crisis epilépticas descritas por Racine 1.972

	Comportamientos	Índice
FA	Automaatismos faciales	1
MC	Mioclonias de la cabeza	2
CUB	Clonias unilateral y bilateral de extremidades	3
CUE	Clonias uni o bilateral con levantamientos ( <i>rearing</i> )	4
SG	Levantamientos, caídas y convulsión tónico-clónica generalizada	5

**Diseño experimental:**

Fueron evaluadas cuarenta y siete (47) ratas machos, distribuidas en tres grupos experimentales (ver Tabla 2).

**Tabla 2.** Descripción de la distribución del número de animales por cada subgrupo. G0: en este grupo las ratas no fueron confinadas al brazo abierto del laberinto en cruz elevado. G5 y G10: corresponden al grupo de ratas confinadas por 5 o 10 minutos respectivamente. PTZ: animales que recibieron pentilentetrazol. (40 mg/kg en volumen de 1 ml/kg), (n=22) SS: animales que recibieron solución salina al 0.9% (p/v) (n=25)

	Tiempo de confinamiento			
Fármaco	G0	G5	G10	Total
PTZ	8	7	7	22
SS	8	9	8	25
Total	16	16	15	47

**Procedimiento:**

**Primera sesión**

El primer día los animales fueron confinados a un BA del LCE durante el tiempo que le correspondió según la asignación aleatoria (ver diseño experimental y tabla 2), inmediatamente después, cada uno recibió una inyección con el fármaco correspondiente (PTZ o SS), para ser observadas durante 30 minutos en la caja de acrílico y así establecer la severidad de las convulsiones.

**Segunda sesión**

Pasados ocho días, la totalidad de las ratas, pero individualmente, fueron expuestas al laberinto completo (sin obstrucción de ninguno de los brazos) durante 5 minutos.

**Procesamiento de datos**

Los registros de todos los comportamientos (en confinamiento, LCE completo y los convulsivos) fueron procesados con el programa semi-automatizado Prostcom<sup>22</sup>.

Para el análisis comportamental en el LCE, se tuvieron en cuenta el número de entradas a los diferentes lugares del laberinto (en valores absolutos y relativos) así como el tiempo de permanencia acumulado en cada lugar, obteniendo los porcentajes de entradas al BA (%EBA) y tiempo de permanencia en el BA (%TBA), los cuales constituyeron los indicadores de ansiedad.

Tomando el número de veces y la duración de cada uno de los comportamientos convulsivos, se calcularon las frecuencias acumuladas y los tiempos de permanencia

en los comportamientos de tipo convulsivo según Racine, para así construir los siguientes índices:

### Suma de tiempos (ST): $\sum Tc$

Donde: Tc es el tiempo acumulado de un determinado comportamiento convulsivo.

Representa el tiempo total acumulado en 30 minutos de observación post-inyección, que cada animal permaneció emitiendo comportamientos convulsivos.

### Suma de Frecuencias (SF): $\sum Fc$

Donde Fc es la frecuencia acumulada de un comportamiento convulsivo. Este índice representa la frecuencia acumulada de todos los comportamientos de tipo convulsivo.

### Índice suma (IS) = $\sum (IR * Fc * Tc)$

Donde: IR es el valor del índice de Racine. Este índice representa un valor ponderado por cada valor del índice de Racine y que incluye además el producto de las frecuencias acumuladas, con los tiempos correspondientes de cada comportamiento convulsivo. Adicionalmente, se evaluaron por separado las frecuencias de aparición de cada categoría comportamental del índice de Racine y los tiempos de permanencia acumulada en cada uno de los comportamientos de tipo convulsivo.

## RESULTADOS

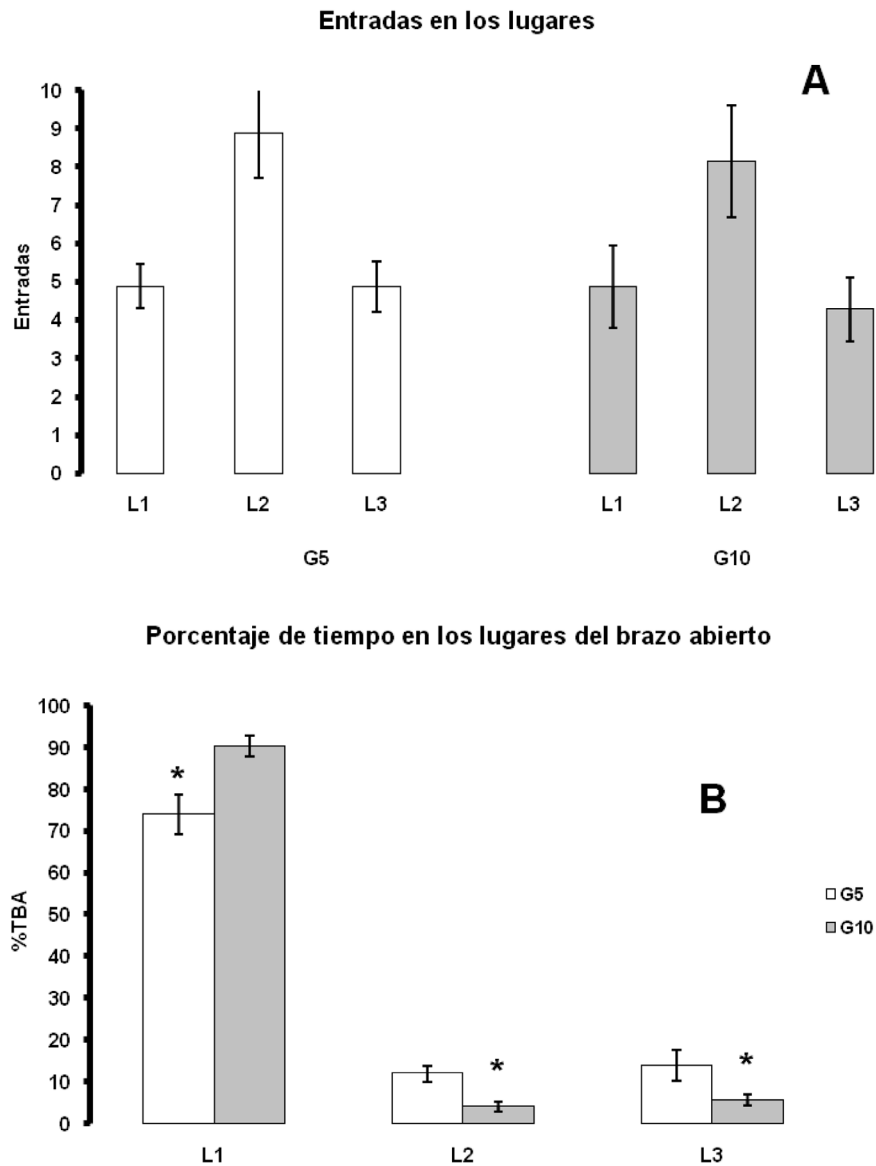
### Manifestaciones comportamentales durante el confinamiento

Un ANOVA de 2 factores (lugar y tiempo de confinamiento) de las entradas a los lugares mostró diferencias significativas en las entradas a cada uno de ellos por parte de los animales ( $F(2,99)=20.854$   $p<0,01$ ), pero no se encontraron diferencias significativas relacionadas con el tiempo de confinamiento ni interacciones entre los factores. Las entradas relativas

también mostraron diferencias de entradas a cada uno de ellos ( $F(2,99)=486,02$   $p<0,01$ ). Comparaciones múltiples (Bonferroni) indicaron que no hubo diferencias significativas en el número de entradas cuando se compararon los lugares 1 y 3, sin embargo el número de entradas al lugar 2 (sin olvidar que el lugar 2 es paso obligatorio entre 1 y 3) fue mayor que las entradas a los lugares 1 y 3 (Figura 1 A).

Considerando que este análisis podría apuntar más a la actividad exploratoria, evaluada por la cantidad total de cruzamientos entre los 3 lugares y que un confinamiento de 10 minutos permitiría que estos animales presentaran un mayor número de cruzamientos, se procedió a comparar esta variable (número de entradas) en los animales confinados por 5 y por 10 minutos. El test de Mann-Whitney, indicó que no hubo diferencias significativas entre los cruzamientos totales de los dos grupos ( $T=292,5$ ,  $p=0,668$ ).

Al analizar la variable tiempo de permanencia en cada uno de los lugares con respecto al tiempo de confinamiento, se encontraron diferencias atribuibles tanto al lugar ( $F(2,99)=78,601$ ,  $p<0,01$ ) como al confinamiento. Ya que el tiempo de confinamiento de los 2 grupos que pasaron por este protocolo difiere en la duración total (5 y 10 minutos), se procedió a evaluar la influencia del tiempo experimental y del lugar del brazo abierto, sobre los tiempos relativos (en porcentaje) de permanencia en los mismos (ANOVA de 2 factores). En los casos en que hubo diferencias significativas se procedió a realizar las comparaciones múltiples corregidas. No se encontraron diferencias entre los porcentajes de tiempos de permanencia en los lugares 2 y 3 ni cuando los animales se confinaron 5 minutos, tampoco cuando se confinaron 10 minutos. Las diferencias se encontraron asociadas al lugar 1, de manera que tanto en el grupo confinado 5 minutos como en el grupo confinado 10 minutos, los animales permanecieron más tiempo en este lugar que en los lugares 2 y 3 ( $F(2,99)=1133,33$   $p<0,01$ ). Si bien los animales confinados por 10 minutos permanecieron por un mayor tiempo (en porcentaje) en el lugar 1 que aquellos confinados por 5 minutos, esto solo obedece a un mayor tiempo de exposición en experimento de los mismos (Figura 1 B).



**Figura 1.** A. representa los promedios  $\pm$  error estándar de las entradas a los diferentes lugares del brazo abierto durante el confinamiento de los animales.

B. Promedios  $\pm$  error estándar del tiempo relativo (%TBA) de permanencia en los lugares del brazo abierto durante el confinamiento. L1: Lugar 1 confinamiento n minutos. L2: Lugar 2 confinamiento n minutos y L3, lugar 3, confinamiento n minutos. \*Diferencias significativas entre el grupo confinado por 5 minutos y el confinado por 10 minutos ( $p < 0.05$ ).

#### Efecto del confinamiento en el brazo abierto del LCE sobre la severidad de las crisis convulsivas

Con base en un abordaje convencional de la severidad de las crisis convulsivas, se procedió a analizar el efecto del confinamiento en el BA sobre el índice máximo de Racine. Un análisis de Kuskal-Wallis sobre el puntaje máximo

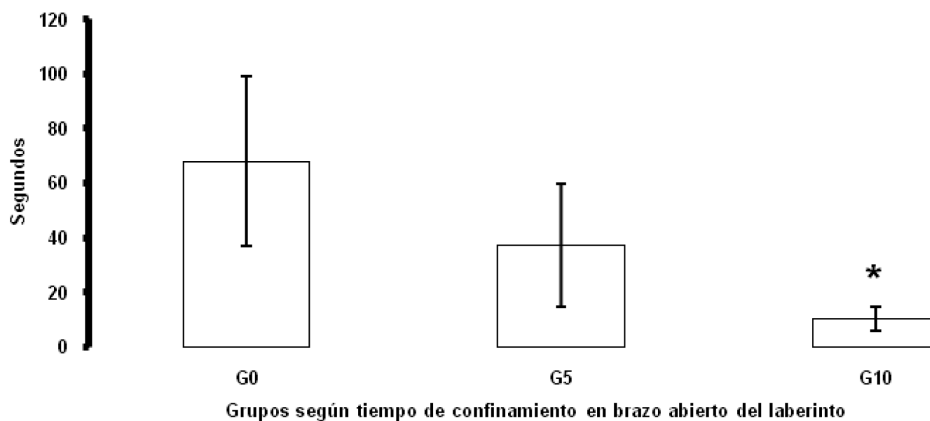
de Racine no indicó diferencias significativas entre los animales con 0, 5 y 10 minutos de confinamiento en el BA ( $H(2,26) = 2,043, p = 0,36$ ).

El mismo análisis de varianza no paramétrico sobre cada uno de los otros parámetros de severidad de las crisis convulsivas se resume en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Representa las diferencias entre los subgrupos al aplicar una prueba de Kruskal-Wallis. Las iniciales corresponden a los nombres de los comportamientos, acompañados del índice Racine para cada comportamiento entre los paréntesis, además de los nuevos índices convulsivos.

Kruskall-Wallis			
Variable	H(2 GL)	p	Dunn's
<u>Frecuencias</u>			
FA(1)	2.366	0.306	0>10
MC(2)	9.927	0.007*	--
CUB(3)	5.1175	0.075	--
CUE(4)	0.979	0.613	--
SG(5)	0	1	--
SF	9.371	0.009*	0>10
<u>Tiempos</u>			
FA(1)	3.232	0.199	--
MC(2)	4.616	0.099	--
CUB(3)	6.784	0.034	--
CUE(4)	0.979	0.613	--
SG(5)	0.005	0.998	--
ST	8.355	0.034*	0>10
IS	10.062	0.007*	0>10

SUMATORIA DE TIEMPOS EN COMPORTAMIENTOS CONVULSIVOS



**Figura 2.** Representa el promedio ± error estándar de los tiempos acumulados en comportamientos convulsivos (según Racine). \* Diferencia con respecto al grupo cero (p<0.05).

En todos los casos de comparaciones múltiples, los valores del grupo de animales que no fue confinado al laberinto (G0) fueron mayores que los del grupo confinado por 10 minutos en los brazos abiertos (G10) evidenciado luego de aplicar una prueba *post hoc* de Dunn's.

Tomando en consideración que la tendencia de los valores que mostraron ser significativos fue progresivamente decreciente, en función del tiempo de confinamiento y los poderes de las pruebas fueron bajos por el tamaño de las muestras, además de no haber detectado diferencias significativas entre el grupo de 5 minutos con el de 10 minutos, se procedió a agrupar todos los animales que fueron confinados en un solo grupo, para compararlos con los no confinados utilizando una prueba de Mann-Whitney (ver Tabla 4). En este caso se evidenció al igual que en la tabla 3, que los puntajes máximos de Racine no fueron lo suficientemente sensibles para detectar diferencias entre los grupos y una vez más, los animales no confinados fueron los que presentaron valores convulsivos más altos.

**Tabla 4.** Representa los valores de prueba para cada variable analizada con Mann–Whitney. \* Representa los valores con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). La última columna representa los grupos que fueron diferentes entre sí.

Variable	Mann-Witney			
	T	Npeq	Ngran	p
<u>Frecuencias</u>				
FA(1)	111500	8	14	0.195
MC(2)	136500	8	14	0.003*
CUB(3)	124000	8	14	0.0032*
CUE(4)	95500	8	14	0.835
SG(5)	92000	8	14	0.972
SF	134500	8	14	0.004*
<u>Tiempos</u>				
FA(1)	54000	8	14	0.01*
MC(2)	122000	8	14	0.044*
CUB(3)	128000	8	14	0.015*
CUE(4)	95600	8	14	0.835
SG(5)	92000	8	14	0.972
ST	130000	8	14	0.01*
IS	134000	8	14	0.005*

### Efectos del confinamiento sobre la memoria

Con el fin de evaluar los efectos del confinamiento en el brazo abierto, sobre la exploración de los brazos abiertos en una segunda exposición de los animales al laberinto completo, se realizó un análisis de Kruskal-Wallis con los animales que recibieron solución salina después del confinamiento, analizando las variables: %EBA y %TBA.

No se encontraron diferencias significativas para la primera variable %EBA ( $H(2,26)=1,548$ ,  $p=0,461$ ), ni para la segunda variable %TBA ( $H(2,26)=1,733$ ,  $p=0,4204$ ).

El mismo tipo de análisis se realizó para evaluar los efectos del confinamiento más PTZ sobre el %EBA y el TBA; en este caso tampoco se encontraron diferencias significativas relacionadas con estas variables ( $H(2,26)=1,089$ ,  $p=0,58$  y  $H(2,26)=0,60$ ,  $p=0,738$ ).

Con base en esto se agruparon, por un lado los animales que recibieron la inyección de PTZ más el confinamiento, por otro lado, los que recibieron solución salina después del confinamiento, tampoco se encontraron diferencias significativas para el %EBA ni para %TBA ( $p=0,252$  y  $0,466$  respectivamente).

### DISCUSIÓN

Pese a que el protocolo de confinamiento ha sido utilizado con considerable frecuencia en paradigmas como la memoria emocional<sup>23</sup> y nocicepción<sup>24</sup>, muy pocos abordan el comportamiento exhibido por el animal durante el confinamiento. Los animales analizados en este estudio prefirieron permanecer en el lugar proximal (cerca de la lamina de división) del BA confinado, sin importar si contaron con tiempos breves o extensos de confinamiento.

El que los animales prefieran el lugar proximal a la lamina de división sugiere que el confinamiento al BA estaría siendo un estímulo estresante, en donde el lugar 1 o proximal representaría una menor exposición a un potencial peligro, puesto que, evitan avanzar a lo largo de la plataforma. Circunstancia que podría ser comparada con la exploración de una rata en el LCE completo, en donde se presentan mayores frecuencias y tiempos de permanencia en los BC que en los BA, lo cual es claro alrededor del minuto 3 de la primera exposición<sup>25</sup>, permaneciendo desde este momento casi exclusivamente en alguno de los bazos cerrados<sup>26</sup>.

Cuando los animales son forzados a permanecer en el BA, presentan manifestaciones de tipo miedo tales como defecación, freezing e incremento de corticosterona en plasma sanguíneo<sup>11</sup>, sin que haya sido identificada plenamente la fuente de dicha aversión<sup>27</sup>.

El confinamiento no mostró ser un factor que altere el comportamiento asociado con memoria emocional en una exposición al LCE completo, puesto que, los %EBA y los %TBA de las ratas confinadas, no mostraron diferencias significativas con respecto a las que no

fueron confinadas, respuesta que se mantuvo incluso cuando se realizó la misma comparación con ratas inyectadas con PTZ.

Ahora bien, File y colaboradores<sup>16</sup> afirman que el BA es capaz de generar aversión por sí solo, por lo que el confinamiento al mismo representa una experiencia altamente estresante, que se puede observar (en sus estudios) por una menor exploración a los BA del LCE completo en una segunda exposición. Por otro lado Frussa-Filho y Ribeiro<sup>28</sup>; Bertoglio y Carobrez<sup>23</sup>, sostienen que la naturaleza aversiva del BA es aun discutida, puesto que en sus trabajos no se presentó un aumento de la evitación al BA en la exposición al LCE con previo confinamiento al BA. Son Bertoglio y Carobrez<sup>29</sup> quienes plantean la necesidad de la exposición del animal a los dos ambientes del laberinto para que se construya una aversión a uno de estos, lo cual cobra sentido si entendemos que el LCE representa como novedad un estímulo potencialmente aversivo y que solo cuando el animal compara estos dos ambientes se pueden esperar cambios de los TBA y %EBA en una exposición posterior al laberinto completo.

Nuestros resultados estarían acorde con lo propuesto con File y colaboradores 1990 en el sentido que el confinamiento al BA es un estímulo estresante (resultados de la primera sesión experimental), sin embargo, en nuestros resultados no se evidenció un efecto claro sobre las manifestaciones comportamentales en la segunda sesión experimental. El BA representa un estímulo estresante para los animales, sin que esto repercuta en la memoria y en consecuencia el confinamiento constituiría un estímulo ansiogénico, que a su vez diferiría de estados fóbicos o de tipo miedo<sup>30</sup>.

Cuando se analizó el efecto del confinamiento en el BA sobre el desarrollo de crisis convulsivas, quedó claro que bajo un abordaje convencional (nivel máximo de Racine) no se encontraron relaciones que indiquen dicho efecto, no siendo así cuando se evaluó la duración y la frecuencia de estos comportamientos.

Al comienzo de nuestra investigación sabiendo de la existencia de un fuerte solapamiento de la epilepsia y la ansiedad a diversos niveles, se planteó como hipótesis que aquellos animales sometidos a un estímulo estresante, mostrasen crisis convulsivas más severas que aquellos que no presentasen dicho estímulo, sin embargo este no fue el caso, por el contrario, el posible nivel de estrés inducido por el confinamiento, estaría protegiendo de las convulsiones, protección que a su vez podría originarse por la activación de receptores

inhibitorios como el GABA<sub>A</sub> a nivel de corteza motora (aspecto no evaluado en este trabajo). Podríamos sugerir entonces que el solapamiento de estas dos patologías se presenta en un cerebro “epiléptico”, mientras que al aplicar un estímulo aversivo en un cerebro normal se podrían desencadenar una serie de procesos protectores ante las convulsiones.

Por último, el confinamiento tiene un efecto ansiogénico lo suficientemente distinguible de episodios fóbicos o de miedo, ya que la memoria no se muestra comprometida.

Estudios posteriores podrían evaluar el desarrollo de las crisis convulsivas en líneas genéticas susceptibles a manifestaciones ansiogénicas, así como en aquellas sometidas a un estrés crónico, sabiendo que Chapoutier y Venault<sup>4</sup> al trabajar con líneas de ratas genéticamente seleccionadas por su susceptibilidad a las crisis convulsivas, encontraron que estas presentan mayores manifestaciones de ansiedad que aquellas que son resistentes a las convulsiones.

Sería igualmente interesante evaluar el efecto del confinamiento al BA, en el desarrollo de crisis convulsivas provocadas por el PTZ tanto en dosis crónicas como agudas, permitiendo establecer si el confinamiento disminuye la severidad de las crisis indistintamente al modo de administración de este fármaco.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a Diana Pilar Martínez por su colaboración en la ejecución de la investigación y aportes en el escrito; así como a María Carolina Velásquez por sus correcciones en el lenguaje estadístico y en el escrito en general.

## REFERENCIAS

1. Blanchard DC; Williams G; Lee EMC; Blanchard RJ: Taming of wild *Rattus norvegicus* by lesions of the mesencephalic central grey. *Physiological psychology* 1981; 9:157-63.
2. Garcia-Cairasco N; Terra VC; Tsutsui JAC: Audiogenic-like and flight behavior after collicular bicuculline are blocked by nigral clobazepam and intercollicular transactions. *Proceedings of the American epilepsy society meeting. Epilepsia* 1989; 30:708.
3. Tomaz C, Brandao M, Garcia-Cairasco N. Overlapping neural substrates underlying defense reactions, aversive memory, and convulsive behavior. *Neurotransmitter interactions and cognitive function* 1992; 15: 240-56



4. Chapoutier G, Venault P. A pharmacological link between epilepsy and anxiety? *Trends in Pharmacological Sciences* 2001; 22: 491-493.
5. File SE: Short-term rebound anxiolytic effects and long-term changes in platelet benzodiazepine binding after pentylentetrazole-kindling in two strains of rats. *Anxiety* 1996; 2: 109-16.
6. Mensah SA, Beavis JM, Thapar AK, Kerr MP. A community study of the presence of anxiety disorder in people with epilepsy. *Epilepsy and behaviour* 2007; 11(1):118-24.
7. Jacoby A, Backer GA, Steen N. The clinical course of epilepsy and its psychological correlates: findings from a U.K. community study. *Epilepsia* 1996; 37:148-61.
8. Conde CA, Costa V, Tomaz C. Measuring emotional memory in the elevated T maze using training to criterion procedure. *Pharmacology biochemistry and behavior* 1999; 63:63-9.
9. Crawley JN. Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1981; 15 (5):695-9.
10. File SE, Hyde JR. Can social interaction be used to measure anxiety? *British Journal of Pharmacology* 1978; 62 (1):19-24.
11. Pellow S, Chopin P, File S.E, Briley M. Validation of open, closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 1985; 14: 149-67.
12. Carobrez A.P, Bertoglio L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behaviour: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2005; 29:1193-1205
13. File SE: The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research* 1993; 58:199-202.
14. Imhof JT, Coelho ZMI, Schmitt ML, Morato GS, Carobrez AP. Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus-maze apparatus. *Behavioral Brain Research* 1993; 56: 177-180.
15. Garcia AM, Cardenas FP, Morato S. Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus-maze. *Physiology Behavior* 2005; 85: 265-270.
16. File SE, Mabbutt PS, Hitchcott PK. Characterisation of the phenomenon of “one-trial tolerance” to the anxiolytic effect of chlordiazepoxide in the elevated plus-maze. *Psychopharmacology* 1990; 102:98-101.
17. Griebel G, Moreau JL, Jenck F, Martin J], Misslin R. Some critical determinants of the behaviour of rats in the elevated plus-maze. *Behavioural Processes* 1993; 29: 37-48.
18. Rodin EA. Metrazol tolerance in a “normal” and volunteer population. *Electroencephalography and clinical Neurophysiology* 1958; 10:433-46.
19. Venault P, Chapouthier G, Prado de Carvalho L, Rossier J. Effects of convulsant ligands of the GABA-benzodiazepine receptor complex in conflict and learning tasks in mice. *Encephale* 1992; 18(6):655-60.
20. Racine R. Modification of seizure activity by electrical stimulation: I. After-discharge threshold. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 1972; 32(3):269-79.
21. Racine R. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 1972; 32(3):281-94
22. Conde C, Costa V, Tomaz C: PROSTCOM. Un Conjunto de Programas Para Registro Y Procesamiento de datos Comportamentales en Investigaciones de Fisiología Y Farmacología Biotemas 2000; 13(1); 145-59.
23. Bertoglio LJ, Carobrez AP. Prior maze experience required to alter midazolam effects in rats submitted to the elevated plus-maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2002; 72:449-55.
24. Mendes-Gomes J, Nunes-de-Souza R.L. Concurrent nociceptive stimulation impairs the anxiolytic effect of midazolam injected into the periaqueductal gray in mice. *Brain Research* 2005;1047:97 – 104
25. Holmes A, Rodgers R.J. Responses of Swiss-Webster mice to repeated plus-maze experience: further evidence for a qualitative shift in emotional state? *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1998;60,2.473-88.
26. Itoh J, Nabeshima T, Kameyama T. Utility of an elevated plus-maze for evaluation of memory in mice: effects of nootropics, scopolamine, and electroconvulsive shock. *Psychopharmacology* 1990;101:525-32.

27. Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1996; 54:21–30.
28. Frussa-Filho R, Ribeiro R. One-trial tolerance to the effects of chlordiazepoxide in the elevated plus-maze is not due to acquisition of a phobic avoidance of open arms during initial exposure. *Life Sciences* 2002;71:519-25
29. Bertoglio LJ, Carobrez AP. Previous maze experience required to increase open arms avoidance in rats submitted to the elevated plus-maze model of anxiety. *Behavioural Brain Research* 2000; 108:197–203
30. File SE, Zangrossi H, Viana M, Graeff FG. Trial 2 in the elevated plus-maze: a different form of fear? *Psychopharmacology* 1992;111: 491-94.