

Ontogenia del reflejo de inmovilidad en ratas con catalepsia inducida por haloperidol

SERGIO ZAMUDIO, LUCÍA QUEVEDO*, JORGE PACHECO*,
TOMÁS FREGOSO y FIDEL DE LA CRUZ*

Departamento de Fisiología
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
Prol. de Carpio y Plan de Ayala, Col. Santo Tomás
Apartado Postal 42-186
11340 México, D. F.

ZAMUDIO, S., L. QUEVEDO, J. PACHECO, T. FREGOSO Y F. DE LA CRUZ, 1998. Ontogenia del reflejo de inmovilidad en ratas con catalepsia inducida por haloperidol. *An. Esc. Nac. Cienc. biol., Méx.*, **43**: 67-73.

RESUMEN: El reflejo de inmovilidad (RI) es un comportamiento que presentan algunos animales cuando interaccionan con sus depredadores; en el laboratorio se puede inducir en la rata por la aplicación de un par de pinzas en el cuello. En este modelo, el tipo de estímulo y la zona del cuerpo donde se aplica son muy específicos en el animal adulto. Esto sugiere una participación del cerebro anterior en la selección del estímulo adecuado para inducir el reflejo de inmovilidad. Con base en ello se decidió estudiar la influencia del telencéfalo sobre la duración del RI y la especificidad de los estímulos que lo inducen en ratas neonatas (inmaduras telencefálicamente) o con la administración de haloperidol, que bloquea la actividad de los ganglios basales del cerebro anterior. Los resultados mostraron que en la rata, tanto el bloqueo dopaminérgico como la inmadurez del cerebro anterior provocan una pérdida de la especificidad de los estímulos sensoriales que disparan el RI y un aumento en la duración del fenómeno. Por tanto, el telencéfalo en la rata parece modular la duración del RI e interviene en la discriminación de los estímulos que lo inducen.

INTRODUCCIÓN

El reflejo de inmovilidad (RI) es considerado como una forma pasiva de defensa que presentan algunos animales ante sus depredadores, y durante el periodo neonatal para facilitar el transporte de las crías por parte de las madres. Puede ser inducido en una amplia variedad de organismos: reptiles, anfibios, peces, aves y mamíferos.^{1,9} Una forma de inducir el RI en la rata, es por medio del pinzamiento de la región ventral y dorsal del cuello del animal, colocándolo en el piso en posición supina y sujetándolo hasta que deja de forcejear.³ Generalmente la duración del RI se mide hasta que el animal presenta el reflejo

*Becario COFAA - IPN.

Trabajo realizado con el apoyo de los proyectos: DEPI, IPN clave: 964247 y CONACYT clave: 3554-M9311.

de enderezamiento en el piso (REP), de ahí que durante el periodo de inmovilidad queda inhibido el REP. El RI se induce más fácilmente y presenta una mayor duración en ratas neonatas.⁴

Esto último puede reflejar que las estructuras telencefálicas inmaduras en la rata neonata pueden desempeñar un papel inhibitor sobre el RI cuando éstas alcancen su madurez. Además, en un trabajo reciente en nuestro laboratorio,⁶ la sección del encéfalo a nivel mesencefálico produce un incremento en la duración del RI, observándose también que la estimulación por pinzamiento o vendaje en otras regiones del cuerpo del animal inducen el RI, fenómeno que no se observa en la rata adulta normal. Aún más, las ratas neonatas son también susceptibles a la inmovilización cuando la madre las toma de otras regiones diferentes al cuello.¹ Por otro lado, la administración de haloperidol, una droga neuroleptica que bloquea receptores dopaminérgicos en los ganglios basales (caudado, putamen y acumbens), produce un estado de acinesia y catalepsia en la rata.^{8,10} Durante este estado se encuentran operando, incluso exageradamente, algunos subsistemas de funciones motoras integradas que hacen posible el mantenimiento del equilibrio estático estable del animal; mientras que otros subsistemas de movimiento, como los que participan en el escudriñamiento, la orientación y la locomoción, se encuentran inoperantes.^{7,13} Se ha postulado como una de las funciones de los ganglios basales, el control talámico de las aferencias sensoriales hacia la corteza cerebral,² y es posible que la disminución de la actividad motora asociada a la catalepsia por haloperidol⁶ y el aumento en la duración del RI inducido por pinzamiento provocado por la administración de haloperidol,⁵ se deban a esta causa.

Con base en lo anterior, se decidió investigar la influencia de las estructuras telencefálicas (corteza cerebral y ganglios basales) en la especificidad de los estímulos táctiles que inducen el RI, para lo cual se trabajó con ratas neonatas inmaduras telencefálicamente y administrando haloperidol para tratar de inhibir algún subsistema que participe en la selección de los estímulos que inducen el RI.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se emplearon ratas wistar macho adultas (300-350 g), y crías de ambos sexos de 10 y 30 días de edad. El día de nacimiento se definió como día 0 y las camadas se ajustaron, el día 3, a 10 individuos por camada. Las ratas de 30 días de edad fueron destetadas el día 21. Todos los animales se mantuvieron en un cuarto a $22 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura y en un ciclo luz-oscuridad de 12:12 horas (inicio del ciclo de luz a las 08:00 h), con libre acceso al alimento y al agua. Todas las pruebas se realizaron durante el ciclo luminoso, videograbándose para su análisis posterior. En el caso de las ratas lactantes, se mantuvieron separadas de sus madres un máximo de 10 minutos.

Prueba de la catalepsia

La catalepsia se midió por medio de la prueba de la barra:¹⁴ las patas delanteras del animal se colocan sobre un bloque de madera y se registra el tiempo que transcurre hasta que la rata baja sus patas. La altura del bloque fue de 2.2 cm y 5.5 cm para las ratas de 10 y 30 días respectivamente¹² y de 10 cm para los animales adultos. Al colocar las extremidades del animal sobre el bloque, le ocasiona una postura inusual que es esencial para la especificidad de la prueba. Si algún animal bajaba sus patas inmediatamente (i.e., dentro de 3 s) la experiencia era repetida una vez más, si por segunda vez la rata se retiraba

inmediatamente del bloque, el procedimiento era repetido por última vez. Si el animal permanecía con sus patas sobre el bloque por 180 s, la prueba se terminaba con un registro de 180 s.

Medida del reflejo de inmovilidad

Para inducir el RI se utilizaron dos tipos de estímulos táctiles en diferentes partes del cuerpo: el pinzamiento o el vendaje. El pinzamiento se realizó con un par de pinzas que se colocaron en la parte dorsal y ventral del cuello, tórax o la pelvis, y el vendaje se realizó colocando una cinta elástica alrededor del cuello, tórax o la pelvis, este vendaje no impedía ni la respiración ni el movimiento del animal.⁶

Después de realizar el pinzamiento o el vendaje, se colocó al animal en posición supina lateral y se le sujetó por algunos instantes hasta que el animal quedó inmóvil, se midió el tiempo transcurrido hasta que el animal recobró la posición prona. El orden de aplicación del estímulo en una determinada zona del cuerpo del animal fue al azar.

Droga

El haloperidol (*Sigma Chemical Company*) fue disuelto al momento del experimento en solución salina (NaCl 0.9%), una o dos gotas de ácido láctico fueron añadidas para solubilizarlo (aproximadamente pH 5.0). Cada rata fue inyectada por vía ip con 5 mg/kg de haloperidol.⁷ Se midió la respuesta antes y después de la administración de haloperidol. Los tiempos entre la administración y la medición fueron de 30 minutos para las ratas de 10 y 30 días, y 90 minutos para las adultas; a estos tiempos las ratas mostraban signos característicos de catalepsia por bloqueo dopaminérgico: acinesia, colgamiento, anclaje, y daban positiva la prueba de la barra.

Análisis de datos

Los datos fueron estudiados utilizando, para la catalepsia, un análisis de varianza bifactorial (*edad × tratamiento*), y para el reflejo de inmovilidad: uno bifactorial (*edad × sitio de estimulación*) y otro trifactorial (*edad × tratamiento × sitio de estimulación*), se hicieron las subsecuentes comparaciones múltiples por el método de Newman-Keuls.

RESULTADOS

Catalepsia

La duración de la catalepsia, después de la administración, se observa en la figura 1, el haloperidol indujo catalepsia en todas las edades probadas, el análisis de varianza muestra un efecto significativo del tratamiento $F(1, 54) = 114; p < 0.001$, no encontrándose diferencias entre las edades $F(2, 54) = 2.44; p > 0.05$, ni interacción significativa entre los dos factores $F(2, 54) = 0.75$.

El reflejo de enderezamiento en el piso se presentó casi inmediatamente en todos los animales catalépticos, no observándose diferencias con respecto al control (datos no mostrados).

Reflejo de inmovilidad

En la figura 2 se observa que las ratas de 10 días de edad muestran una mayor susceptibilidad al vendaje o al pinzamiento en todas las áreas del cuerpo estudiadas $F(2, 133) = 17.94; p < 0.01$, siendo el pinzamiento o vendaje del tórax donde se observó una

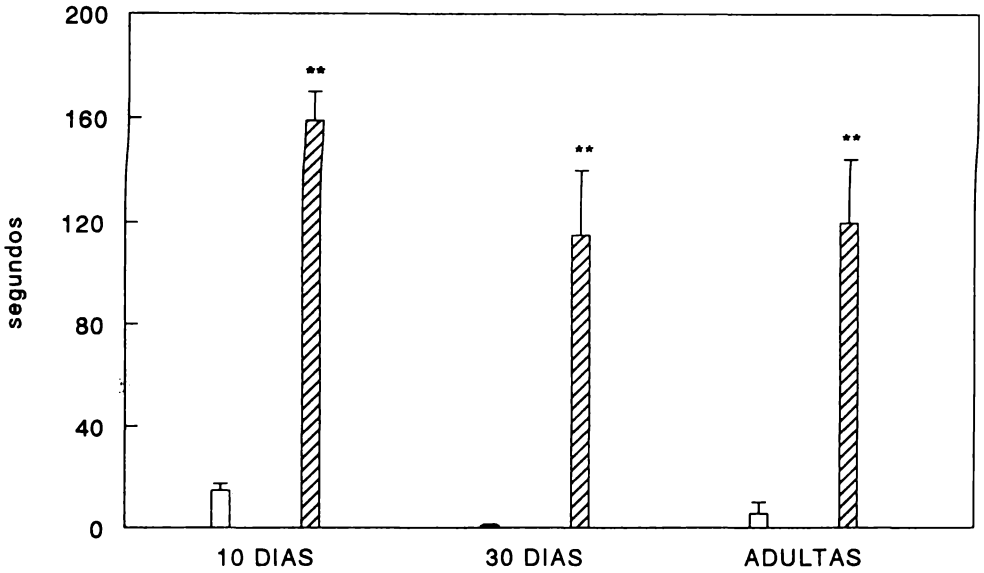


FIG. 1. Duración de la catalepsia (media + EEM) después de la inyección ip 5 mg/kg de haloperidol en función de la edad. Haloperidol barras con líneas diagonales, control barras vacías. ** $p < 0.01$ vs. control.

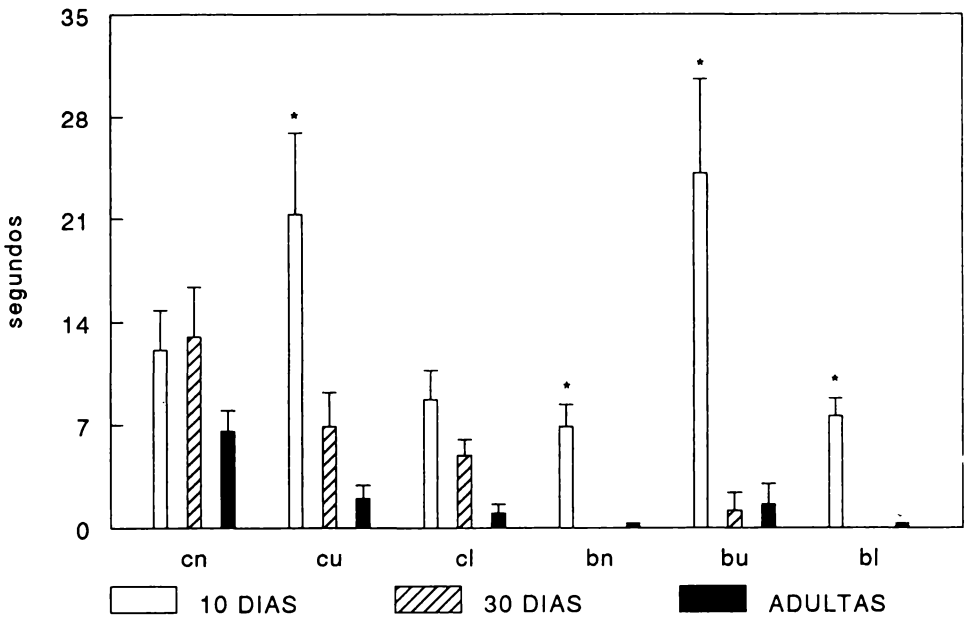


FIG. 2. Duración del reflejo de inmovilidad (media + EEM) en función de la edad y de varias clases de estimulación. Ratas de 10 días, barras vacías; 30 días, barras con líneas diagonales; adultas, barras oscuras; (cn) pinza en el cuello; (cu) pinza en el tórax; (cl) pinza en la pelvis; (bn) venda en el cuello; (bu) venda en el tórax, y (bl) venda en la pelvis. * $p < 0.05$ vs. adultas ó 30 días.

mayor duración del RI $F(5, 133) = 3.35$; $p < 0.01$, la interacción (edad \times sitio de estimulación) no fue significativa $F(10, 133) = 1.77$. En el caso de las ratas de 30 días y adultas la susceptibilidad fue menor, siendo el pinzamiento en el cuello donde el estímulo se observó con mayor efecto; en general los demás estímulos produjeron duraciones del RI pequeñas. Como se muestra en la figura 3, el haloperidol incrementó la duración del RI en ratas de todas las edades probadas y la susceptibilidad al RI en ratas de 30 días y en las adultas $F(1, 224) = 40.81$; $p < 0.001$, un efecto de mayor intensidad se observó en los animales de 10 días $F(2, 224) = 165.37$; $p < 0.001$. La interacción (edad \times sitio de estimulación \times droga) no fue significativa $F(10, 224) = 1.32$.

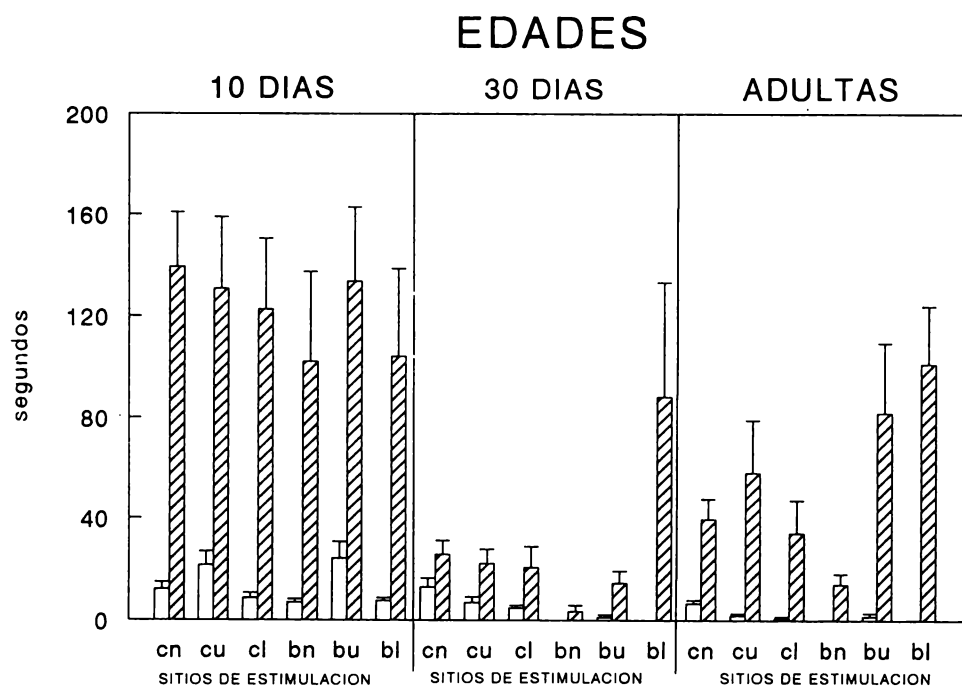


FIG. 3. Efecto del haloperidol 5 mg/kg ip sobre la duración del reflejo de inmovilidad (media + EEM) a varias edades. Haloperidol, barras con líneas diagonales; control, barras vacías; (cn) pinza en el cuello; (cu) pinza en el tórax; (cl) pinza en la pelvis; (bn) venda en el cuello; (bu) venda en el tórax y (bl) venda en la pelvis.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que en las ratas adultas, en las que la maduración cerebral es completa, el estímulo y la zona del cuerpo donde se puede inducir el RI están bien definidos (pinzamiento del cuello). El pinzamiento o el vendaje en otras regiones del cuerpo presentar un efecto muy reducido e incluso nulo. Cuando se administra el haloperidol, que bloquea a los receptores dopaminérgicos en el estriado, la especificidad se pierde y los estímulos que antes eran ineficaces se vuelven efectivos para inducir el RI. Si tomamos en cuenta que el estriado participa en la selección de los estímulos sensoriales que llegan a la corteza

cerebral,² es posible que esta falta de información modifique la respuesta del animal ante la estimulación táctil. Estos resultados son semejantes a los observados con el salto "paradójico"¹¹ de las ratas tratadas con haloperidol: cuando una rata normal es colocada sobre una superficie inclinada con la cabeza hacia adelante, el animal reacciona en orden de frecuencia, dándose vuelta y trepando, saltando hacia el frente (o a los lados si el frente no es un lugar seguro) o extendiendo su cuerpo sobre la superficie y resbalándose hacia abajo. En cambio, cuando se administra haloperidol, las ratas saltan invariablemente hacia el frente, sea o no un lugar seguro, incluso con los ojos cubiertos. Lo anterior hace pensar que en condiciones normales la rata evalúa la respuesta más adecuada ante la pérdida de estabilidad, y en los animales tratados la respuesta se generaliza por la pérdida de la influencia del cerebro anterior.¹¹ Aún más, las ratas con un corte a nivel del mesencéfalo pierden la capacidad de discriminar el estímulo adecuado para la inducción del RI.⁶ Por otro lado, las ratas de 10 días con un cerebro anterior inmaduro muestran una susceptibilidad mayor para caer en inmovilidad, y la duración de ésta es mayor comparado con las ratas de 30 días y adultas,³ en ellas es posible inducir el RI por pinzamiento o el vendaje de zonas diferentes del cuello. Con base en lo expuesto, creemos que la participación del cerebro anterior en el RI radica en dos aspectos: en primer lugar en lo que se refiere a la duración de este fenómeno, que es mayor en las ratas sin influencias telencefálicas; de la misma forma estas estructuras determinan el tipo de estímulo táctil y las zonas del cuerpo que son capaces de inducir el RI. La influencia del cerebro anterior al parecer es mediada por los sistemas dopaminérgicos del estriado, cuya maduración en la rata comienza a partir de la segunda semana de edad,¹² esto explicaría por qué las ratas lactantes resultan ser más susceptibles con un estímulo como es el pinzamiento que semeja el mordisco de sus madres al transportarlas, y que las zonas de mayor efecto: el cuello y el tórax, son precisamente donde las madres toman con mayor frecuencia a las crías,¹ lo anterior sería consistente con la función facilitadora del RI en el transporte de las crías. Por otro lado, el que el RI en la rata adulta se induzca prácticamente con un solo tipo de estimulación y un sitio como es el cuello, apoyaría la tesis de que el RI en el adulto es una forma de defensa pasiva, y en caso de que el depredador lo muerda en esta zona, el animal deje de forcejear y por tanto el daño sea menor. En cambio, si el mordisco es en otra zona, la presa puede aún intentar librarse.

SUMMARY

The immobility reflex (IR) is a state of complete absence of movement and relative unresponsiveness. It can be triggered in a variety of species by sensorial stimulation. Neonate rats are very susceptible to IR by clamping or bandaging the neck, adult rats exhibit IR if a clamp is fastened to the skin of the neck, but not at other areas of the body, and not by bandaging. Cataleptic haloperidol-treated rats shown an increase in the duration of IR. We found that haloperidol produces an increase in the duration of IR at all ages tested (10-days, 30-days and adult), it seems that the adult is unable to select the kind of stimuli that is able to induce the IR. These data support the hypothesis that the systems above the mesencephalon modulate the IR.

BIBLIOGRAFÍA

BREWSTER, J. and M. LEON., 1980. Facilitation of maternal transport by norway rat pups. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **94**: 80-88.

- CHEVALIER, G. and J. M. DENIAU., 1990. Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. *TINS*, **13** (7): 277-280.
- DE LA CRUZ, L. F., J. JUNQUERA. and M. RUSSEK., 1987. Ontogeny of immobility reactions elicited by clamping bandaging and maternal transport in rats. *Exp. Neurol.*, **97**: 315-326.
- DE LA CRUZ, L. F. y J. JUNQUERA., 1989. Potentiation by vestibular stimulation of the immobility reflex elicited by clamping in developing and adult rats. *Behav. Brain Res.*, **34**: 235-237.
- DE LA CRUZ, L. F., J. JUNQUERA and M. RUSSEK., 1990. Ontogeny of the endorphinergic and dopaminergic modulation on the immobility reflex elicited by clamping in rats. *Int. J. of Psychophysiol.*, **9**: 171-177.
- DE LA CRUZ, L. F., T. URIÓSTEGUI, E. CHUC, M. GARCÍA, S. ZAMUDIO, J. PACHECO and L. QUEVEDO, 1995. Potentiation of the immobility response elicited by bandaging and clamping in mesencephalic rats. *Physiol. Behav.*, **58**: 737-742.
- DE RYCK, M., T. SCHALLERT and P. TEITELBAUM, 1980. Morphine versus haloperidol catalepsy in the rat: a behavioral analysis of postural support mechanisms. *Brain Res.*, **201**: 143-172.
- FOG, R. and A. RANDRUP, H. PAKKENBERG, 1971. Intrastrial injection of quaternary butyrophenones and oxypertine: neuroleptic effect in rats. *Psychopharmacologia*, **19**: 224-230.
- GALLUP, JR. G. G. 1974. Animal hypnosis: factual status of a fictional concept. *Psychol. Bull.*, **81**: 836-853.
- HARTGRAVES, S. and P. KELLY, 1984. Role of mesencephalic formation in cholinergic-induced catalepsy and anticholinergic reversal of neuroleptic-induced catalepsy. *Brain Res.*, **307**: 47-54.
- MORRISSEY, T. K., S. PELLIS, V. PELLIS and P. TEITELBAUM., 1989. Seemingly paradoxical jumping in cataleptic haloperidol-treated rats is triggered by postural instability. *Behav. Brain Res.*, **35**: 195-207.
- ROWLETT, J. K., N. W. PEDIGO and M. T. BARDO, 1991. Catalepsy produced by striatal microinjections of the D1 dopamine receptor antagonist SCH 23390 in neonatal rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **40** (4): 829-834.
- SCHALLERT, T. and P. TEITELBAUM, 1981. Haloperidol, catalepsy and equilibrating functions in the rat: antagonistic interaction of clinging and labyrinthine righting reactions. *Physiol. Behav.*, **27**: 1077-1083.
- WINKLER M., U. HAVEMANN and K. KUSCHINSKY, 1982. Unilateral injection of morphine into the nucleus accumbens induces akinesia and catalepsy, but no spontaneous muscular rigidity in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **318**: 143-147.