

Modificación de la ansiedad en ratas SHR y WKY con la edad y ciclo estral

Alejandra Figueroa Rios¹, Samantha Karina Mendieta Macias¹, Claudia V. Rivera Cerecedo², Lorena Mendiola Almaraz¹, Mario A. Arias-García³, Nidia Samara Rodríguez-Rivera¹, Diana Barrera Oviedo¹, Perla D. Maldonado¹ y Gabriela Xochitl Ayala Méndez^{2*}.

ISSN IMPRESO 2954-4327. ISSN ELECTRÓNICO 2992-7277
<https://dx.doi.org/10.58713/rf.v5i1-11> Ciudad de México

Resumen

Introducción: Las ratas SHR son un modelo animal del trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) y las ratas WKY de depresión endógena. El ciclo estral puede modificar la conducta y el nivel de ansiedad. **Objetivo:** Cuantificar por medio del laberinto elevado en cruz (LEC) el nivel de ansiedad en las diferentes fases del ciclo estral a los 6 y 12 meses de edad. **Método:** Se estudiaron 12 ratas hembra SHR y 7 WKY con ciclos estrales regulares. Los datos se analizaron mediante observación directa y software especializado. Se utilizó un índice para comparar el tiempo de permanencia y la distancia recorrida en los brazos abiertos y cerrados entre los grupos de ratas. **Resultados:** Se encontraron diferencias significativas en las diferentes fases del ciclo estral en los tiempos de exploración en los brazos abiertos y cerrados del LEC entre las cepas SHR y WKY, tanto en ratas adultas como de mediana edad. Las ratas SHR exhibieron tiempos y distancia más prolongados en los brazos abiertos que las WKY, en particular en la etapa del estro, que continuó observándose hasta alcanzar la edad mediana. En contraste, las ratas WKY mostraron un aumento de la ansiedad con el incremento de la edad. **Conclusiones:** Las ratas SHR muestran una respuesta de ansiedad menor en comparación con las ratas WKY que prevalece con el avance de la edad. En contraste, las ratas WKY muestran mayor ansiedad con el incremento de la edad.

Palabras Clave:

SHR = Ratas espontáneamente hipertensas.

WKY = Ratas Wistar Kyoto

LEC = Laberinto Elevado en Cruz

SHa = Ratas adultas SHR

SHm = Ratas de edad mediana SHR

Wa = Ratas adultas WKY

Wm = Ratas de edad mediana WKY

Abstract

Background: SHR rats are an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and WKY rats of endogenous depression. The estrous cycle would modify behavior and anxiety levels. **Objective:** Assessment of anxiety level in the different phases of the estrous cycle at 6 and 12 months of age through the Elevated Plus-Maze (EPM). **Method:** 12 SHR and 7 WKY female rats with regular estrous cycles were studied. Data were analyzed by direct observation and specialized software. An index was used to compare the time spent and distance traveled in open and closed arms between the groups of rats. **Results:** We found significant differences in the estrous cycle phases in the exploration times in the open and closed arms of the LEC between SHR and WKY strains, in adult and middle-aged rats. SHR rats exhibited longer times and distance in the open arms than WKY rats, particularly in the estrous phase, which continued to be observed until reaching middle age. In contrast, WKY rats showed an increase in anxiety with age. **Conclusions:** SHR rats showed a lower anxiety response compared to WKY, which predominated with advancing age. In contrast, WKY rats showed an increase in anxiety with age.

¹ Facultad de Medicina, UNAM

² Instituto de Fisiología Celular

³ Facultad de Psicología, UNAM

*Autor de correspondencia. Gabriela Xochitl Ayala Méndez Email: gayala@ifc.unam.mx ORCID 0009-0001-6114-5225, Alejandra Figueroa Rios ORCID 0000-0002-1423-2203, Perla D. Maldonado ORCID 0000-0002-7629-0580, Nidia Samara Rodríguez-Rivera ORCID 0000-0002-1760-181X, Diana Barrera Oviedo ORCID 0000-0003-1882-6479, Mario A. Arias-García ORCID 000-002-7500-348X, Samantha Karina Mendieta Macias ORCID 0009-0007-3631-6356, Claudia V. Rivera Cerecedo ORCID 0000-0002-3037-667X

Introducción.

Las Ratas espontáneamente hipertensas (SHR) son un modelo animal ampliamente utilizado para estudiar la hipertensión arterial y el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH)⁽¹⁾. Por otro lado, las ratas Wistar Kyoto (WKY) son usadas como control normotenso y también son un modelo para estudiar la depresión con ansiedad e hipoactividad⁽²⁾. Ambas cepas son clave en investigaciones neurocientíficas especialmente en el campo de la farmacología de la ansiedad.

El laberinto elevado en cruz (LEC) es una herramienta importante en la investigación farmacológica. Este método se basa en la tendencia natural de los roedores a permanecer más tiempo en lugares seguros, como los brazos cerrados del laberinto, y evitar los brazos abiertos, que perciben como peligrosos. Esto permite evaluar la efectividad de compuestos que se utilizan para tratar los síntomas de la ansiedad (ansiolíticos) en estudios preclínicos. Es importante considerar que las respuestas de ansiedad pueden variar entre las diferentes cepas de roedores⁽³⁾ y también ser modificadas por factores como el sexo y el ciclo estral en el caso de las hembras.^(4,5,6)

En las ratas hembra SHR, se ha observado un comportamiento menos ansioso en el LEC en comparación con las ratas WKY^(3,7). Literatura previa en otras cepas de ratas, han reportado diferencias en la respuesta a la ansiedad según las distintas fases del ciclo estral⁽⁸⁾. Sin embargo, existen pocos estudios que aborden cómo el envejecimiento y el ciclo estral afectan las respuestas de ansiedad en ratas hembra SHR y WKY, así como en los machos.⁽¹⁰⁾ En ratas macho Wistar, se ha documentado una reducción en el porcentaje de tiempo y entradas en los brazos abiertos del LEC con el envejecimiento⁽⁹⁾.

El presente estudio se enfoca en comparar el comportamiento de ratas hembra SHR y WKY en el LEC durante las diferentes fases del ciclo estral, a los seis y doce meses de edad. Esta última edad es comparable con la perimenopausia en mujeres, donde comienzan a observarse modificaciones hormonales^(11,12).

Materiales y métodos

Las ratas SHR (SHR/NCrl) y WKY (WKY/NCrl) fueron adquiridas en el Bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los experimentos se realizaron en 12 ratas SHR y 7 ratas WKY, con edades de 170 a 180 días postnatales (seis meses).

El manejo y cuidado de los animales siguió las pautas de la Guía Internacional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio⁽¹³⁾ y la normativa mexicana vigente⁽¹⁴⁾. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, asegurando el bienestar de los animales.

Los animales fueron mantenidos en condiciones ambientales controladas, con un ciclo de luz-oscuridad de 12/12 horas, temperatura de 22 ± 2 °C y humedad del 40-70 %. Las ratas fueron alimentadas con pellet ad libitum (5001 Lab Diet, St Louis, MO) y agua ozonificada. Las ratas se aclimataron a estas condiciones durante una semana antes del inicio del experimento.

Las ratas se alojaron en jaulas estándar de policarbonato, con 4 ratas por jaula. Se les proporcionó cama de madera esterilizada, que se cambió dos veces por semana, y túneles de cartón esterilizados como enriquecimiento ambiental.

Frotis Vaginales

Los frotis vaginales y las evaluaciones en el laberinto elevado en cruz (LEC) fueron realizados por personal capacitado con experiencia en el manejo de animales de laboratorio. El ciclo estral de las ratas se monitoreó diariamente mediante frotis vaginales. Solo se incluyeron en el estudio aquellas ratas hembra que mostraron dos ciclos estrales consecutivos con una duración de 4 a 5 días. Las muestras se tomaron entre las 8:00 a.m. y las 9:30 a.m.

Las secreciones vaginales se obtuvieron insertando cuidadosamente una pipeta plástica en el canal vaginal, utilizando 10 µl de solución

de NaCl al 0.9%. Estas muestras se colocaron en portaobjetos y se tiñeron con una solución de cristal violeta al 0.1%. Posteriormente, se observaron bajo un microscopio óptico con objetivos de 10x y 40x. En la fase de estró predominaban las células cornificadas sin núcleo; en el proestro, las células epiteliales con núcleo; en el diestro, los leucocitos; y en el metaestro, una proporción equilibrada de leucocitos, células epiteliales cornificadas y células epiteliales con núcleo. ⁽¹⁵⁾

Evaluación en el Laberinto Elevado en Cruz (LEC)

Antes de cada sesión de evaluación, se realizó un frotis vaginal para determinar la fase del ciclo estral. Se asignaron las siglas SHa y Wa a las ratas adultas de 170-180 días postnatales (seis meses), que se mantuvieron alojadas hasta alcanzar los 365-380 días postnatales (doce meses), considerándose ratas de edad mediana (SHm y Wm) (12). El objetivo era analizar posibles cambios en el comportamiento asociados con la edad.

Se evaluó al grupo de ratas adultas SHa, seguido del grupo de ratas adultas Wa. Ambas cepas fueron evaluadas en el LEC el mismo día para garantizar condiciones comparables entre ambos grupos.

Comportamiento en el LEC

Los experimentos se llevaron a cabo en una habitación libre de ruido e iluminada con luz roja (50 lux). El laberinto elevado en cruz (LEC) estaba compuesto por cuatro brazos de plexiglás negro interconectados, de 10 cm de ancho y 50 cm de longitud, elevándose a una altura de 50 cm sobre el suelo. Dos de estos brazos eran cerrados y los otros dos, abiertos.

Las pruebas se realizaron entre las 11:00 a.m. y las 2:00 p.m. Cada rata fue colocada en el centro del LEC durante 5 minutos. Se registraron el tiempo y la distancia recorrida en los brazos abiertos o cerrados del laberinto, considerando que las cuatro patas del animal estuvieran completamente

dentro del brazo correspondiente. Los datos se expresaron en segundos $\pm$ error estándar (SEM) y en metros $\pm$ SEM, respectivamente.

Se utilizó el índice obtenido por las ratas SHR/WKY para comparar el tiempo de permanencia o la distancia recorrida entre los grupos SHa/Wa o SHm/Wm en cada fase del ciclo estral, permitiendo así estimar las diferencias cuantitativas entre ambas cepas.

Todas las pruebas fueron grabadas mediante una cámara de video y analizadas utilizando un software especializado en análisis de movimiento (Omnialva®).

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó el software Sigma Plot (Copyright® 2011, Systat, Software Inc.). Los datos relacionados con el tiempo y la distancia se sometieron a un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) con prueba post hoc. También se aplicó un enfoque no paramétrico mediante el análisis de varianza unidireccional de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney para comparaciones entre grupos pareados.

Los resultados se presentaron como medias acompañadas por el error estándar. Se consideraron diferencias significativas entre grupos cuando $P < 0.05$.

Resultados

Comparación de los tiempos de exploración de ratas adultas SHa vs Wa (6 meses de edad).

Brazos abiertos: Se observaron diferencias significativas en los tiempos de exploración entre las cepas SHa y Wa durante el proestro ($P = 0.036$), estró ($P = 0.001$), y diestro ($P = 0.001$). El metaestro no mostró diferencias significativas ($P = 0.465$) (prueba de Mann-Whitney, Figura A. Ratas adultas. Brazos abiertos). La relación SHa/Wa en el tiempo de exploración fue: proestro = 3.5, estró = 6.7, metaestro = 2.2, y diestro = 8. En SHa, se encontraron diferencias en el ciclo estral entre

proestro vs estro y estro vs metaestro (Dunn, $P < 0.05$, Fig. A. Ratas adultas. Brazos abiertos). Las ratas Wa no mostraron diferencias entre las fases del ciclo estral ($P = 0.144$, Kruskal-Wallis).

Brazos cerrados: Solo se encontraron diferencias significativas en los tiempos de exploración entre SHa y Wa en la fase de diestro ($P = 0.004$, prueba de Mann-Whitney). Se observaron diferencias dentro del ciclo estral de SHa entre estro vs diestro (Dunn, $P < 0.05$, Fig. A. Ratas adultas. Brazos cerrados).

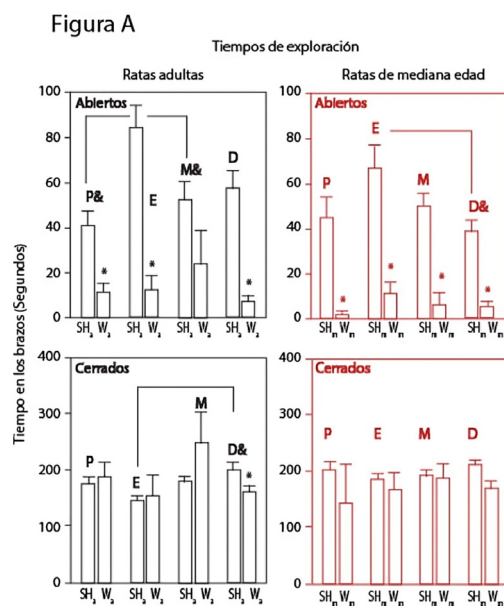


Figura A. Tiempos de exploración por ratas SHR y WKY adultas y de mediana edad en el LEC en las diferentes fases del ciclo estral. SHa (ratas espontáneamente hipertensas adultas), Wa (ratas Wistar Kyoto adultas), SHm (ratas espontáneamente hipertensas de mediana edad), Wm (ratas Wistar Kyoto de mediana edad).

* Representa diferencias significativas entre la media de tiempo (segundos) de exploración $\pm$ SEM en los brazos abiertos y cerrados del LEC de SHR vs WKY. & Representa diferencias significativas en los tiempos de exploración de SHa proestro vs SHa estro y SHa estro vs SHa metestro (brazos abiertos) y SHa estro vs SHa diestro (brazos cerrados).

Estos resultados indican que las ratas SHa

permanecen más tiempo en los brazos abiertos durante las fases de proestro, estro y diestro, en comparación con las ratas Wa.

Comparación de los tiempos de exploración de ratas de edad mediana SHm vs Wm (12 meses de edad)

Brazos abiertos: Se encontraron diferencias significativas en los tiempos de exploración entre las cepas SHm y Wm en las fases de proestro ($P = 0.005$), estro ($P = 0.001$), metaestro ($P = 0.001$), y diestro ($P = 0.001$) (prueba de Mann-Whitney, Fig. A. Ratas de mediana edad. Brazos abiertos). La relación SHm/Wm en los tiempos de exploración fue: proestro = 21.6, estro = 5.9, metaestro = 7.7, y diestro = 6.5. En SHm, hubo diferencias significativas en los tiempos de exploración entre estro y diestro (Dunn, $P < 0.05$). Las ratas Wm no mostraron diferencias entre las fases del ciclo estral ($P = 0.521$, Kruskal-Wallis).

Brazos cerrados: No se encontraron diferencias significativas en los tiempos de exploración entre las cepas SHm y Wm ($P = 0.739$, Fig. A. Ratas de mediana edad. Brazos cerrados).

Los resultados sugieren que, aun con el incremento de la edad, los tiempos de exploración en los brazos abiertos de las ratas SHm continúan significativamente mayores que los de las ratas Wm (Mann-Whitney, $P = 0.001$).

Efecto de la edad en los tiempos de exploración en el LEC en ratas SHR y WKY

SHa vs SHm:

Brazos abiertos: No se observaron diferencias significativas en los tiempos de exploración entre SHa y SHm, excepto en la fase de diestro, donde la relación SHa/SHm fue 1.5 (Mann-Whitney, $P < 0.05$).

Brazos cerrados: No se encontraron diferencias significativas en los tiempos de permanencia entre SHa y SHm.

Estos resultados sugieren que el tiempo de exploración de las ratas SHR en el LEC no se modifica drásticamente con la edad.

Wa vs Wm:

Brazos abiertos: Las ratas Wa mostraron tiempos de permanencia significativamente mayores que las ratas Wm solo en la fase de proestro, con una relación Wa/Wm de 5.5 (Mann-Whitney, $P = 0.001$).

Brazos cerrados: No se encontraron diferencias significativas en los tiempos de exploración entre Wa y Wm.

Comparación de las distancias de exploración de ratas adultas SHa vs Wa (6 meses de edad).

Brazos abiertos: Las ratas SHa recorrieron distancias significativamente mayores que las ratas Wa durante las diferentes fases del ciclo estral: proestro ($P = 0.001$), estro ($P = 0.001$), metaestro ($P = 0.030$) y diestro ($P = 0.001$) (prueba de Mann-Whitney, (Fig. B. Ratas adultas. Brazos abiertos). La relación SHa/Wa en las distancias recorridas fue: proestro = 2.9, estro = 4.2, metaestro = 3.2, y diestro = 6.8. Se observaron diferencias significativas entre SHa proestro vs SHa estro (Dunn, $P < 0.05$). Las ratas Wa no mostraron diferencias significativas en las distancias recorridas en las diferentes fases del ciclo estral ($P = 0.092$, Kruskal-Wallis).

Brazos cerrados: Las ratas SHa recorrieron mayores distancias que las ratas Wa en las fases de proestro ($P < 0.001$), estro ($P = 0.039$), metaestro ($P = 0.039$) y diestro ($P < 0.001$) (prueba de Mann-Whitney, Fig. B. Ratas adultas. Brazos cerrados). No se encontraron diferencias significativas en las distancias recorridas por las ratas Wa ($P = 0.138$, Kruskal-Wallis).

Figura B. Distancias recorridas por las ratas SHR y WKY adultas y de mediana edad en el LEC en las diferentes etapas del ciclo estral. SHa (ratas espontáneamente hipertensas adultas), Wa (ratas Wistar Kyoto adultas), SHm (ratas espontáneamente hipertensas de mediana edad), Wm (ratas Wistar Kyoto de mediana edad).

* Representa diferencias significativas entre la media de la distancia (metros) de exploración $\pm$ SEM en brazos abiertos y cerrados del LEC de SHR vs WKY. & Representa diferencias significativas en los tiempos de exploración de SHa proestro vs SHa estro (brazos abiertos) y SHm estro vs SHm diestro (brazos abiertos).

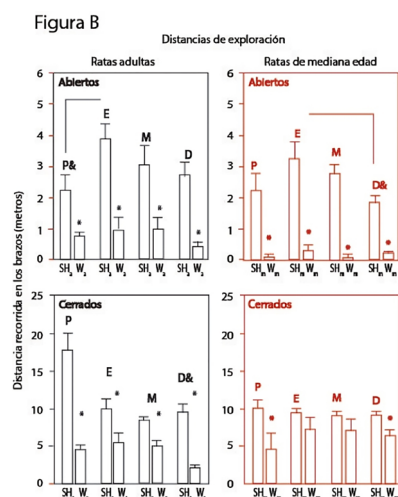
Comparación de las distancias de exploración de SHm vs Wm a los 12 meses de edad.

Brazos abiertos: Las ratas SHm continuaron mostrando distancias recorridas significativamente mayores que las ratas Wm (Fig. B. Ratas de mediana edad. Brazos abiertos): proestro ($P = 0.009$), estro ($P = 0.001$), metaestro ($P = 0.030$) y diestro ($P = 0.001$) (prueba de Mann-Whitney). La relación SHm/Wm en las distancias recorridas fue: proestro = 18.8, estro = 10.5, metaestro = 46.5, y diestro = 8.5. Se observaron diferencias significativas entre SHm estro vs SHm diestro (Dunn, $P < 0.05$).

Las ratas Wm no mostraron diferencias significativas en las distancias recorridas en todas las fases del ciclo estral ($P = 0.355$, Kruskal-Wallis).

Brazos cerrados: Las ratas SHm recorrieron distancias significativamente mayores que las ratas Wm en las fases de proestro ($P = 0.031$) y diestro ($P < 0.001$, prueba de Mann-Whitney). No se encontraron diferencias significativas en las distancias recorridas por las ratas Wm ($P = 0.710$, Kruskal-Wallis).

Estos resultados sugieren que, al alcanzar las ratas SHR la edad de 12 meses, continúan recorriendo distancias mayores en comparación con las ratas WKY de la misma edad.



Efecto de la edad en las distancias de exploración en el LEC en ratas SHR y WKY.

SHa vs SHm:

Brazos abiertos: La distancia recorrida por las ratas SHa y SHm fue similar, excepto en la fase de diestro, donde la relación SHa/SHm fue 1.4 (Dunn, $P < 0.05$).

Brazos cerrados: Se observaron diferencias en la fase de proestro, donde las ratas SHa recorrieron distancias significativamente mayores que a los 12 meses (SHm) (Dunn, $P < 0.05$).

Estos resultados indican que la distancia de exploración de las ratas SHR en el LEC no se modifica drásticamente con el avance de la edad.

Wa vs Wm:

Brazos abiertos: La distancia recorrida por las ratas Wa fue mayor que en las ratas Wm en la fase de proestro ($Wa/Wm = 6.3$, Mann-Whitney, $P < 0.001$) y en metaestro ($Wa/Wm = 15.83$, Mann-Whitney, $P = 0.095$).

Brazos cerrados: La distancia recorrida por Wa y Wm mostró diferencias significativas solo en la fase de diestro (Dunn, $P < 0.05$).

Estos datos sugieren que, con el avance de la edad, la distancia recorrida disminuye significativamente en las ratas WKY.

Discusión

Los resultados de este estudio sugieren que tanto la edad como el ciclo estral son factores clave que influyen en la conducta de exploración en el laberinto elevado en cruz (LEC) de las ratas SHR y WKY.

Las ratas SHa de 6 meses de edad permanecen más tiempo en los brazos abiertos durante todas las fases del ciclo estral en comparación con las ratas Wa. Específicamente, en la fase del estro, las ratas SHa permanecen más tiempo en los brazos abiertos, mostrando diferencias significativas con las fases de proestro y metaestro. Además, las ratas SHa recorren distancias mayores que las ratas Wa en todas las fases del ciclo

estral, siendo también el estro la fase de mayor exploración, con diferencias notables respecto al proestro. Es interesante hacer notar que, en los brazos cerrados, las ratas SHa recorrieron distancias mayores que las Wa en todas las fases del ciclo estral, lo que concuerda con estudios de campo abierto, donde se evidenció que las ratas SHR muestran una mayor deambulación y menor defecación en comparación con la WKY en las fases de luz y oscuridad ⁽¹⁶⁾.

En contraste, las ratas Wa de 6 meses permanecen menos tiempo y recorren menor distancia en los brazos abiertos en comparación con las ratas SHa de la misma edad, sin observarse diferencias significativas entre las diferentes fases del ciclo estral.

Estos hallazgos coinciden con estudios previos que indican que las ratas SHR muestran un comportamiento menos ansioso y más activo en comparación con las ratas WKY ^(3,7,17).

Observamos que durante la fase del estro, la ansiedad es menor, lo cual es similar a lo reportado en ratas Sprague Dawley, donde el tiempo de permanencia y el número de entradas en el LEC son mayores durante el proestro y el estro que durante el diestro ^(18, 19). Este patrón también se ha observado en ratas Wistar adolescentes ⁽²⁰⁾ y adultas, donde la ansiedad disminuye en el proestro. Una posible explicación es que, durante esta fase del ciclo estral, las concentraciones de estradiol son más elevadas en comparación con el diestro ⁽¹⁵⁾. De hecho, cuando las hembras en diestro son tratadas farmacológicamente con estradiol, también muestran menor ansiedad, lo que sugiere una acción ansiolítica de esta hormona ⁽⁶⁾.

El receptor de estrógenos ER β es el que media los efectos ansiolíticos en las pruebas conductuales ⁽²¹⁾, como se ha demostrado con el agonista selectivo diarylpropionitrile (S-DPN) que reduce la conducta de ansiedad ^(22,23), modulando el eje hipotálamo-hipofisiario-suprarrenal (HPA) y reduciendo la concentración plasmática del cortisol y de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) ^(23,24).

Además del estradiol, se ha descrito que el metabolito de la progesterona, 5 α -pregnan-3 α -ol-20-ona (3 α ,5 α -THP), se incrementa durante la etapa de estro en el hipocampo, diencéfalo y corteza, en comparación con la etapa de diestro, lo que coincide con un comportamiento anti-ansiedad y un incremento de la conducta exploratoria ^(25,26).

A la edad de 12 meses, las ratas son consideradas de mediana edad. Antes de la pérdida de los ciclos estrales regulares, que ocurre entre los 8 y 14 meses de edad, se observa un retraso y una modificación en el patrón de secreción de la hormona luteinizante ^(11, 12), junto con un incremento en la proporción de estradiol respecto a la progesterona. Esto puede contribuir al deterioro de la función del eje hipotálamo-pituitaria-ovarios, un fenómeno característico del envejecimiento ^(12, 27).

Cuando las ratas SHR alcanzaron la mediana edad, continuaron mostrando mayores tiempos y distancias de exploración en los brazos abiertos en relación con las ratas WKY de la misma edad durante todas las fases del ciclo estral. Las ratas SHm mostraron diferencias significativas en los tiempos y distancias de exploración entre las fases de estro y diestro.

Comparando las ratas SHa con las SHm, no se observaron cambios drásticos en la conducta de ansiedad, excepto en la etapa de diestro, donde las ratas SHa permanecen discretamente más tiempo en los brazos abiertos.

Estos resultados concuerdan con un estudio previo, en el que se reportó que la actividad en el LEC de ratas SHR de ambos sexos a los 11 meses de edad no se modificó de manera considerable ⁽¹⁰⁾, a pesar de que se ha descrito un déficit cognitivo en las ratas SHR con el avance de la edad ^(28,29), lo que sugiere que la edad no es un factor que modifique significativamente el patrón de ansiedad en las ratas SHR.

En contraste, la edad sí impacta el desempeño en el LEC de las ratas WKY. Estas ratas se mantuvieron hipoactivas en los brazos abiertos en todas las fases del ciclo estral. Las ratas

Wa permanecen más tiempo en el proestro en comparación con las Wm. Asimismo, la distancia recorrida por las ratas Wa es mayor que la de las ratas Wm en el proestro y en el metaestro. Estos resultados indican que, con la edad, se incrementa la respuesta de ansiedad en las ratas WKY. Contrario a nuestros hallazgos, se ha reportado que las ratas WKY muestran un decremento de la ansiedad a la edad de 11 meses ⁽¹⁰⁾.

El hecho de que durante el metaestro o diestro temprano se haya observado menor ansiedad en las ratas Wa en comparación con las Wm en la distancia de exploración, podría deberse a que en esta fase la progesterona aumenta progresivamente ⁽⁸⁾. La progesterona es el precursor de la alopregnanolona cerebral, un potente ansiolítico que modula al receptor de GABA-A, modificando la excitabilidad neuronal ⁽³⁰⁾.

Conclusiones:

El presente estudio resalta la influencia diferencial de la edad y el ciclo estral en la conducta exploratoria y de ansiedad de las ratas SHR y WKY. Las ratas SHR presentan menor ansiedad y mayor actividad exploratoria, especialmente durante el estro, destacando el papel modulador del estradiol. En contraste, las ratas WKY muestran un incremento en la ansiedad y una reducción de la actividad exploratoria con la edad. Estos hallazgos aportan información valiosa sobre los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ansiedad en modelos animales del trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) e hipertensión, y de depresión, incluyendo la edad adulta y la perimenopausia.

Contribuciones de los autores:

Alejandra Figueroa Rios lideró el proyecto de investigación, planeando, diseñando y ejecutando todos los experimentos, además de participar en la redacción del trabajo de investigación.

Gabriela Xochitl Ayala Méndez participo en la planeación de experimentos, capacitación para el manejo de los animales de laboratorio, la identificación del ciclo estral, búsqueda de bibliografía especializada y la redacción del trabajo de investigación.

Samantha Karina Mendieta Macias participo en la planeación y ejecución de experimentos, así como en el análisis de resultados.

Claudia V. Rivera Cerecedo se encargó de la reproducción, vigilancia de la salud y el bienestar de los animales utilizados en este proyecto.

Lorena Mendiola Almaraz participo en la planeación y ejecución de experimentos, así como en el análisis de resultados.

Mario A. Arias-García participo en el análisis de resultados y escritura del trabajo final.

Nidia Samara Rodríguez Rivera coordinó la redacción del manuscrito, asegurando la coherencia temática y la claridad expositiva.

Diana Barrera Oviedo proporcionó orientación y supervisión en todas las etapas del proceso del proceso de escritura garantizando la calidad y relevancia del trabajo realizado.

Perla Deyanira Maldonado Jiménez analizó críticamente la literatura revisada y aportó ideas clave para la estructuración del artículo.

Conflicto de intereses

Todos los autores han leído este trabajo y están de acuerdo con el mismo. Ninguno de los autores tenemos ningún conflicto de interés que declarar.

Referencias

1. Regan SL, Williams MT, Vorhees CV. Review of rodent models of attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Biobehav Rev* 2022; 132:621-637.
2. Redei EE, Udell ME, Solberg Woods LC, Chen H. The Wistar Kyoto Rat: A Model of Depression Traits. *Curr Neuropsychopharmacol*. 2023; 21:1884-1905.
3. Ramos A, Berton O, Mormède P, & Chaouloff F. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Behav. Brain Res* 1997; 85: 57–69.
4. Castillo LY, Ríos-Carrillo J, González-Orozco JC, Camacho-Arroyo I, Morin JP, Zepeda RC, Roldán-Roldán G. Juvenile Exposure to BPA Alters the Estrous Cycle and Differentially Increases Anxiety-like Behavior and Brain Gene Expression in Adult Male and Female Rats. *Toxics* 2022; 10: 513.
5. Miller CK, Halbing AA, Patisaul HB, Meitzen J. Interactions of the estrous cycle, novelty, and light on female and male rat open field locomotor and anxiety-related behaviors. *Physiology and behaviour* 2021; 228: 113203.
6. Marcondes FK, Miguel KJ, Melo LL, Spadari-Bratfisch RC. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiology & Behavior*, 2001; 74: 435–440.
7. Ramos A, Kanger AL, Basso PF, Da Silva Santos JE, Assreuy J, Vendruscolo LF, Takahashi RN. Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain. *Behav Brain Res* 2002; 29:113-123.
8. Lovick TA, Zangrossi H Jr. Effect of Estrous Cycle on Behavior of Females in Rodent Tests of Anxiety. *Front Psychiatry* 2021; 12:711065.
9. Bessa JM, Oliveira M, Cerqueira JJ, Almeida OF, Sousa N. Age-related qualitative shift in emotional behaviour: paradoxical findings after re-exposure of rats in the elevated-plus maze. *Behavioural Brain Research* 2005; 162: 135–142.
10. Ferguson SA, Gray EP. Aging effects on elevated plus maze behavior in spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley male and female rats. *Physiology & behaviour* 2005; 85: 621–628.
11. Cooper RL, Conn PM, Walker RF. Characterization of the LH surge in middle-aged female rats. *Biol Reprod* 1980;23: 611-615.
12. Rubin BS. Hypothalamic alterations and reproductive aging in female rats: evidence of altered luteinizing hormone-releasing hormone neuronal function. *Biol Reprod*. 2000; 63:968-976.
13. Institute for Laboratory Animal Research. 2011. Guide for the care and use of laboratory animals, 8th ed. Washington (DC): National Academies Press.
14. Norma Oficial Mexicana. [Internet]. 1999. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
15. McLean AC, Valenzuela N, Fai S, Bennett SA. Performing Vaginal Lavage, Crystal Violet Staining, and Vaginal Cytological Evaluation for Mouse Estrous Cycle Staging Identification. *J. Vis. Exp* 2012; 15: (67): e4389.
16. Kräuchi K, Wirz-Justice A, Willener R, Campbell IC, Feer H. Spontaneous hypertensive rats: behavioral and corticosterone response depend on circadian phase. *Physiol Behav* 1983; 30:35-40.
17. Langen B, Dost R. Comparison of SHR, WKY and Wistar rats in different behavioural animal models: effect of dopamine D1 and alpha2 agonists. *ADHD Atten Def Hyp Disord* 2011; 3: 1–12.
18. Mora S, Dussaubat N, Díaz-Véliz G. Effects of the estrous cycle and ovarian hormones on behavioral indices of anxiety in female rats. *Psychoneuroendocrinology* 1996; 21: 609–620.
19. Díaz-Véliz G, Alarcón T, Espinoza C, Dussaubat N, Mora S. Ketanserin and Anxiety Levels: Influence of Gender, Estrous Cycle, Ovariectomy and Ovarian Hormones in Female Rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1997; 58: 637–642.
20. D'Souza D, Sadananda M. Estrous Cycle Phase-Dependent Changes in Anxiety- and Depression-Like Profiles in the Late Adolescent Wistar-Kyoto Rat. *Ann Neurosci* 2017;24:136–145.

21. Borrow AP, Handa RJ. Estrogen Receptors Modulation of Anxiety-Like Behavior. *Vitam Horm* 2017; 103:27-52.
22. Lund TD, Rovis T, Chung WCJ, Handa RJ. Novel actions of estrogen receptor- β on anxiety-related behaviors. *Endocrinology* 2005; 146: 797–807.
23. Oyola MG, Portillo W, Reyna A, Foradori CD, Kudwa A, Hinds L, Handa RJ, Mani SK. Anxiolytic effects and neuroanatomical targets of estrogen receptor- β (ER β) activation by a selective ER β agonist in female mice. *Endocrinology*. 2012; 153:837-846.
24. Hughes ZA, Liu F, Platt BJ, Dwyer JM, Pulicicchio CM, Zhang G, Schechter LE, Rosenzweig-Lipson S, Day M. WAY-200070, a selective agonist of estrogen receptor beta as a potential novel anxiolytic/antidepressant agent. *Neuropharmacology* 2008; 54:1136–1142.
25. Frye CA, Petralia SM, Rhodes ME. Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3 α ,5 α -THP. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 67: 587–596.
26. Frye CA, Rhodes ME. Progesterin concentrations are increased following paced mating in midbrain, hippocampus, diencephalon, and cortex of rats in behavioral estrus, but only in midbrain of diestrous rats. *Neuroendocrinology* 2006; 83: 336-347.
27. LaPolt PS, Matt DW, Lu JKH. Progesterone implants delay age-related declines in regular estrous cyclicity and the ovarian follicular reserve in Long-Evans rats. *Biol Reprod* 1998; 59:197–201.
28. Terry AV Jr, Hernandez CM, Buccafusco JJ, Gattu M. Deficits in spatial learning and nicotinic-acetylcholine receptors in older, spontaneously hypertensive rats. *Neuroscience* 2000;101:357-368.
29. Lin Z, Lu Y, Li S, Li Y, Li H, Li L, Wang L. Effect of eplerenone on cognitive impairment in spontaneously hypertensive rat. *Am J Transl Res* 2022;14:3864-3878.
30. Corpéchet C, Young J, Calvel M, Wehrey C, Veltz JN, Touyer G, Mouren M, Prasad VV, Banner C, Sjövall J, et al. Neurosteroids: 3 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-one and its precursors in the brain, plasma, and steroidogenic glands of male and female rats. *Endocrinology*. 1993; 133:1003-1009.