

**Evaluación del efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el
Consumo de Sacarosa en ratas sometidas a aislamiento social.**

Asesor: Ps., PhD. Silvia Botelho de Oliveira.

Coinvestigador: MD, PhD. Carlos Conde.

Estudiantes de Psicología:

Alexandra Díaz Piñeres.

Paula Elena León Carrasquilla.



UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA.

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES.

FACULTAD DE PSICOLOGIA.

2010

**Evaluación del efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el
consumo de sacarosa en ratas sometidas a aislamiento social.**

Estudiantes de Psicología:

Alexandra Díaz Piñeres.

Paula Elena León Carrasquilla.

Asesor: Ps., PhD. Silvia Botelho de Oliveira.

Coinvestigador: MD, PhD. Carlos Conde.

Proyecto de grado para optar el título de Psicólogo.



UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA.

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES.

FACULTAD DE PSICOLOGIA.

2010

Nota de Aceptación

Presidente del Jurado

Floridablanca, _____

*A todos, a vosotros,
los silenciosos seres de la noche
que tomaron mi mano en las tinieblas,
a vosotros, lámparas de la luz inmortal,
líneas de estrella, pan de las vidas,
hermanos secretos, a todos, a vosotros,
digo: no hay gracias,
nada podrá llenar las copas
de la pureza, nada puede
contener todo el sol en las banderas
de la primavera invencible,
como vuestras calladas dignidades.
Solamente pienso
que he sido tal vez digno de tanta
sencillez, de flor tan pura,
que tal vez soy vosotros, eso mismo,
esa miga de tierra, harina y canto,
ese amasijo natural que sabe
de dónde sale y dónde pertenece.
No soy una campana de tan lejos,
ni un cristal enterrado tan profundo
que tú no puedas descifrar, soy sólo
pueblo, puerta escondida, pan oscuro,
y cuando me recibes, te recibes
a ti mismo, a ese huésped
tantas veces golpeado
y tantas veces
renacido.*

*A todo, a todos,
a cuantos no conozco, a cuantos nunca
oyeron este nombre, a los que viven
a lo largo de nuestros largos ríos,
al pie de los volcanes, a la sombra
sulfúrica del cobre, a pescadores y labriegos,
a indios azules en la orilla
de lagos centelleantes como vidrios,
al zapatero que a esta hora interroga
clavando el cuero con antiguas manos,
a ti, al que sin saberlo me ha esperado,
yo pertenezco y reconozco y canto.*

Pablo Neruda

*A todos a vosotros, padres, amigos, profesores, a ustedes que nos acompañaron
en este valioso y arduo proceso, no hay gracias lo suficientemente grandes.*

Vamos Juntos

*Con tu puedo y con mi quiero
vamos juntos compañero
compañero te desvela
la misma suerte que a mí
prometiste y prometí
encender esta candela*

*con tu puedo y con mi quiero
vamos juntos compañero
la muerte mata y escucha
la vida viene después
la unidad que sirve es
la que nos une en la lucha*

*con tu puedo y con mi quiero
vamos juntos compañero
la historia tañe sonora
su lección como campana
para gozar el mañana
hay que pelear el ahora*

*con tu puedo y con mi quiero
vamos juntos compañero
ya no somos inocentes
ni en la mala ni en la buena
cada cual en su faena
porque en esto no hay suplentes*

*con tu puedo y con mi quiero
vamos juntos compañero
algunos cantan victoria
porque el pueblo paga vidas*

*pero esas muertes queridas
van escribiendo la historia
con tu puedo y con mi quiero
vamos juntos compañero.*

Mario Benedetti.

INDICE DE CONTENIDO

Resumen.....	13
Justificación.....	14
Objetivos.....	18
Planteamiento del problema.....	19
Hipótesis.....	25
Referente conceptual.....	26
Depresión.....	26
Anhedonia.....	28
Modelos Animales.....	29
Prueba de Consumo de Sacarosa.....	33
Anhedonia y Sistema Mesolímbico Dopaminérgico.....	36
Metodología.....	42
Diseño.....	42
Animales.....	42
Fármaco.....	43
Instrumentos.....	43
Procedimiento.....	45

Análisis de datos.....	49
Resultados	50
Discusión.....	58
Conclusiones.....	70
Recomendaciones.....	71
Referentes bibliográficos.....	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución en grupos de los animales sometidos al aislamiento social agudo según el tratamiento.

Tabla 2. Efecto del aislamiento social sobre el peso de las glándulas adrenales (Regresión Linear Múltiple).

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 1. Esquema de distribución de cuadrantes del Campo Abierto.

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% el D1 en ratas sometidas al aislamiento social agudo y crónico.

Figura 2. Efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% el D2 en ratas sometidas al aislamiento social agudo y crónico.

Figura 3: Efecto del aislamiento social sobre los niveles de glicemia de ratas como otro indicador fisiológico de la respuesta de estrés.

Figura 4. Efecto de la administración aguda de Bromocriptina en ratas sometidas al aislamiento social sobre la actividad locomotora en el campo abierto.

TITULO: EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE BROMOCRIPTINA SOBRE EL CONSUMO DE SACAROSA EN RATAS SOMETIDAS A AISLAMIENTO SOCIAL.**AUTOR(ES):** Alexandra Díaz Piñeres.
Paula Elena León Carrasquilla.**FACULTAD:** Facultad de Psicología**DIRECTOR(A):** Silvia Botelho de Oliveira**RESUMEN**

Considerando la importancia de apoyar la hipótesis de que el aumento en el consumo de solución de sacarosa altamente concentrada (32%) generado por el aislamiento social crónico se encuentra asociado a una baja sensibilidad a la recompensa como consecuencia de una alteración en el sistema dopaminérgico, el objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos de la administración aguda de Bromocriptina sobre el consumo de sacarosa en ratas sometidas a aislamiento social. Ratas Wistar machos (n=96) fueron alojadas en grupo o aisladas, durante 48 horas (aislamiento agudo) (n=24) o por 21 días (aislamiento crónico) (n=24) a quienes se les administró Bromocriptina (2,5 mg/Kg en volumen de 1ml) o salina tres horas antes de la exposición a la prueba de consumo de sacarosa. Finalizada la evaluación del consumo, se registró el número de cruzamientos en el campo abierto como índice de actividad locomotora de los animales, además de los niveles de glicemia y el peso de las glándulas adrenales, como indicador fisiológico de estrés. De manera general, las ratas sometidas al aislamiento social crónico manifestaron un comportamiento de tipo anhedónico caracterizado por un aumento en el consumo de la solución de sacarosa al 32%. Sin embargo, dicho consumo no se mantuvo en el segundo día de evaluación. Adicionalmente, los animales aislados socialmente exhibieron adrenales más pesadas que los agrupados, evidenciándose una mayor respuesta fisiológica de estos animales al estrés crónico. A pesar de lo anterior, no se pudo confirmar la hipótesis de que el consumo aumentado de la solución de sacarosa al 32% está asociado a una baja sensibilidad a la recompensa, como consecuencia a una disfunción del sistema dopaminérgico, ya que el tratamiento agudo con la Bromocriptina no disminuyó el consumo de sacarosa al 32% de los animales aislados socialmente.

PALABRAS CLAVES:

Estrés, depresión, anhedonia, aislamiento social, Bromocriptina.

TITULO: EVALUATION OF THE EFFECT ACUTE ADMINISTRATION OF BROMOCRIPTINE ON SUCROSE CONSUMPTION IN RATS SUBJECTED TO SOCIAL ISOLATION.

AUTOR(ES): Alexandra Díaz Piñeres.
Paula Elena León Carrasquilla.

FACULTAD: Facultad de Psicología.

DIRECTOR(A): Silvia Botelho de Oliveira.

RESUMEN

This study evaluated the effects of Bromocriptine acute administration on sucrose consumption in rats subjected to social isolation, in order to support the hypothesis that the increased consumption of highly concentrated sucrose solution (32%) generated by chronic social isolation is associated with a low sensitivity to reward as a result of an alteration in the dopaminergic system. Male Wistar rats (n = 96) were housed in groups or isolated for 48 hours (acute isolation) (n = 24) or for 21 days (chronic isolation) (n = 24) who received injection of bromocriptine (2.5 mg / kg in 1 ml volume) or saline three hours before exposure to sucrose intakes consumption test. After the intake measured, we recorded the number of crossings in inside open field as a measured of locomotor activity of animals, also blood sugar levels and weight of adrenal glands, such as physiological indicator of stress. In general, rats subjected to chronic social isolation showed anhedonic-like behavior characterized by an increase in the consumption of sucrose solution 32%. However, this consumption was not sustained in the second day of testing. In addition, socially isolated animals showed heavier adrenals than those grouped, showing greater physiological response of animals to chronic stress. Despite the above, could not confirm the hypothesis that increased consumption of sucrose solution 32% is associated with low sensitivity to reward, as a result of a dysfunction of the dopaminergic system, as the acute treatment bromocriptine did not decrease sucrose consumption to 32% of socially isolated animals.

PALABRAS CLAVES:

Stress, depression, anhedonia, social isolation, bromocriptine.

JUSTIFICACIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la depresión se convertirá, en el 2020, en la enfermedad que mas padecerán los seres humanos, superando el cáncer y los trastornos cardiovasculares. En algunos países latinoamericanos se ha encontrado una alta prevalencia del trastorno depresivo como en Santiago de Chile con un 29.5% y en Rio de Janeiro con un 15.8% (Bhugra & Mastrogianni, 2004). Según las cifras reportadas en uno de los estudios más recientes encontrados, las personas que más se ven afectadas por la depresión se encuentran entre los 15 y 44 años de edad, periodo en el que se sitúa la mayoría de personas con capacidad productiva, lo cual, conlleva pérdidas económicas graves (Bremner et al., 2004).

Particularmente en Colombia, un estudio realizado por el Ministerio de Protección Social (2003) reportó que, según el indicador de “alguna vez en su vida” ha sufrido síntomas depresivos, la prevalencia del trastorno en la zona Atlántica es de 13.4%, Pacífica del 15.3%, Central del 15.5%, Oriental de 8.1% y en la ciudad de Bogotá de un 21.2%. Estas cifras son interpretadas como indicadores de un alto índice de prevalencia en el país, siendo meritorio investigar y profundizar sobre dicha patología para aportar conocimientos que permitan su prevención y tratamiento. Adicionalmente, considerando que algunas de las formas de afrontamiento de este trastorno se centran en la ayuda de familiares o personas cercanas que ofrecen un apoyo en la recuperación de los pacientes que evitan el tratamiento profesional y que estos casos no son registrados, se podría inferir que las medidas de prevalencia pueden ser aun mas altas (Nakane, Jorm, Yoshioka, Charistensen, Nakane & Griffiths, 2005).

Según el DSM-IV-TR (2002), la depresión se clasifica como un trastorno del estado del ánimo caracterizado por la presencia de síntomas como sentimientos de tristeza,

minusvalía, abandono, desesperanza, incapacidad de sentir placer (anhedonia), entre otros, los cuales, para su diagnóstico se deben presentar durante un periodo mínimo de dos semanas. Diferentes estudios realizados con modelos animales se han ejecutado con el fin de aportar a la comprensión de los mecanismos asociados a la depresión, lo que ha favorecido el tratamiento de este trastorno. Sin embargo, aún existe una gran dificultad para modelar estados depresivos animales. Dichos estudios han evaluado uno de los principales síntomas de la depresión que es la Anhedonia, definida operacionalmente por Willner (1995a), como el decrecimiento en la sensibilidad a la recompensa. Considerando que sacarosa es un reforzador primario que forma parte del repertorio básico de cada individuo y que, por ende, tiene efecto de reforzador positivo (Hall et al., 1998), la prueba de consumo de sacarosa ha sido ampliamente utilizada para evaluar el comportamiento anhedónico en roedores (Hall, Humby, Wilkinson & Robbins, 1997; Willner, 1995a).

En este contexto, se ha encontrado que animales sometidos a estresores crónicos moderados reducen el consumo de bajas concentraciones (1% - 7%) de sacarosa, lo que ha sido interpretado como una imposibilidad para experimentar recompensa (D'aquila, Brain & Willner, 1994; Matthews & Robbins, 2003; Willner, Towell, Sampson, Sophokleous & Muscat, 1987). Sin embargo, también se ha encontrado evidencias de que animales sometidos al aislamiento social crónico aumentan el consumo de soluciones de sacarosa en altas concentraciones (32%) (Brenes & Fornaguera, 2008, 2009; Gripo et al., 2007; Hall et al., 1997; Sammut, Bethus, Goodall, & Muscat, 2002), sugiriendo aun inconsistencias relacionadas con la utilización de la prueba de consumo de sacarosa para evaluar comportamiento anhedónico en ratas.

Varios estudios han demostrado la importancia de la neurotransmisión dopaminérgica en las conductas aprendidas que responden a hechos placenteros o de desagrado (Hall et

al., 1997). Así mismo, y considerando que este sistema es activado por las recompensas (Heffner et al., 1977; Hernández, Guzmán & Hoebel, 1991; Hernández & Hoebel, 1988; Juárez, 2007a; Phillips et al., 1989), varios estudios han demostrado que la función mesolímbica dopaminérgica está relacionada con el consumo de estímulos placenteros (Masi et al., 2001; Wang et al., 2004), incluyendo, el refuerzo simulado en el cerebro por drogas recompensantes y comida (Hernández et al., 1991). Coherente con lo anterior, la administración de fármacos antidepresivos ha demostrado mejorar el síntoma anhedónico, aumentando los niveles de dopamina en el cerebro, lo que explicaría la reversión del efecto anhedónico producido por estrés crónico en animales (Muscat, Papp, & Willner, 1992a; 1992b; Papp, Willner & Muscat, 1993; Willner, 1995a).

Con base en todo lo anterior, se podría concluir que el consumo de sacarosa es dependiente de la dosis del reforzador y de la condición de estrés a cual es sometido el animal. Adicionalmente, el comportamiento anhedónico está asociado a una disfunción del sistema dopaminérgico. Considerando que la mayoría de los estudios han asociado la anhedonia con una disminución en el consumo de soluciones de sacarosa poco concentradas (0.7% y 1%), el evaluar la relación del consumo aumentado de soluciones altamente concentradas de sacarosa con manipulación del sistema dopaminérgico, podría aportar mejores evidencias sobre la viabilidad de este modelo, generando así una herramienta útil para evaluar el síntoma depresivo en modelos animales.

Todo lo anterior, favorecería la investigación en el área promoviendo de esta manera el esclarecimiento, desde el punto de vista metodológico, de la controversia existente con respecto a la definición operacional de la anhedonia en ratas y fortaleciendo la utilización de una herramienta fidedigna para evaluar anhedonia, lo que repercutiría en mejores avances teóricos en la comprensión del trastorno depresivo. Adicionalmente,

con la realización del presente estudio se fortalecerá una de las líneas de investigación del grupo de Neurociencias y Comportamiento, la formación investigativa de los estudiantes vinculados y el fortalecimiento de las redes de cooperaciones tanto nacionales como internacionales. De igual forma, se contribuirá a la formación del psicólogo en el campo investigativo, permitiéndole dar respuesta a las necesidades y problemáticas de la sociedad.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el consumo de sacarosa en ratas sometidas a aislamiento social.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Determinar el efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% en ratas sometidas a aislamiento social agudo y crónico.

Identificar el efecto del aislamiento social sobre el peso de las glándulas adrenales de las ratas como indicador fisiológico en la respuesta de estrés.

PROBLEMA

El trastorno depresivo es caracterizado por una gama de síntomas que incluyen sentimientos de tristeza, minusvalía, abandono, desesperanza, incapacidad de sentir placer (anhedonia), entre otros. Además, generalmente es acompañado de manifestaciones físicas como disturbios del sueño, pérdida o ganancia de peso, retardo o agitación psicomotora, entre otras. Según el DSM-IV TR (2002), el diagnóstico de desorden depresivo mayor requiere la presencia de uno o ambos de los dos síntomas centrales: bajo interés o bajo placer (anhedonia) y humor deprimido, ambos durante un periodo de tiempo determinado.

Considerando las limitaciones éticas de experimentación con humanos, muchos estudios han utilizado diferentes aproximaciones para modelar estados depresivos (Anisman & Matheson, 2005; Matthews, Christmas, Swan & Sorrell, 2005). Dichos estudios se han fundamentado en algunas sugerencias propuestas por autores como McKinney y Bunney citados por Botelho y Conde (2001) y Schweizer, Henniger y Sillaber (2009), los cuales sustentan que la depresión se constituye en un síndrome caracterizado por la presencia de síntomas primarios tales como el humor deprimido y desespero emocional, y síntomas secundarios como el aislamiento social, retardo psicomotor, anorexia, pérdida de peso y disturbios del sueño. No siendo posible evaluar objetivamente los síntomas primarios en animales, dichos autores proponen utilizar el término depresión en un sentido operacional para referirse a las alteraciones comportamentales observables que están comúnmente asociadas con la depresión en humanos, siendo estos los síntomas secundarios. Adicionalmente, Paul Willner (1990)

sugiere la evaluación de los estados motivacionales, persistencia disminuida y insensibilidad a la recompensa.

En este contexto, la anhedonia ha sido definida operacionalmente como un decrecimiento en la sensibilidad a la recompensa (Willner, 1995a). Considerando que la sacarosa es un reforzador primario que forma parte del repertorio básico de cada individuo y que por ende tiene efecto de reforzador positivo (Hall et al., 1998) y que el consumo de sacarosa altera el metabolismo de la glucosa, el cual puede llegar a afectar áreas que están relacionadas con el estrés, la ansiedad y la depresión (Pizzagalli et al., 2004), la prueba de consumo de sacarosa (Juárez, 2007b) ha sido utilizada para evaluar anhedonia en roedores (Hall et al., 1997; Rygula et al., 2006; Sammut et al., 2002; Willner, 1995a; Willner, 2005).

En la mayoría de los estudios encontrados en la literatura se ha demostrado que los animales sometidos a estresores crónicos (EC) moderados reducen el consumo de soluciones de sacarosa de baja concentración (1% - 0,7%) (Matthews & Robbins, 2003; Willner, Towell, Sampson, Sophokleous & Muscat, 1987). Sin embargo, otros estudios (Brenes & Fornaguera, 2008, 2009; Gripo et al., 2009; Hall et al., 1997; Sammut et al., 2002) han demostrado que animales sometidos al Aislamiento Social Crónico (ASC) aumentan el consumo de solución de sacarosa al 32%. Este modelo es basado en la importancia de los efectos de ciertos acontecimientos al inicio de la vida sobre el desarrollo posterior y la aparición de la depresión, en particular, la importancia de las experiencias precoces de pérdida o privación materna. Por lo tanto, ha sido utilizado como un modelo inductor de estrés (Becerra, 2003; Leng, Feldon, & Ferger, 2004) para simular la etiología de la depresión en roedores (Botelho & Conde, 2001; Matthews & Robbins, 2003).

Este aumento en el consumo de sacarosa ha sido más comúnmente interpretado como motivación de incentivo aumentado, sin relacionarlo, necesariamente, con el comportamiento anhedónico. Sin embargo, sistemáticamente en nuestro laboratorio se ha demostrado que el ASC aumenta el consumo de soluciones más concentradas de sacarosa (32%), lo que se ha interpretado como comportamiento anhedónico (Botelho, Cortés & Conde, 2005; Botelho, Martínez & Conde, 2008; Botelho, Rodríguez, Santos & Conde, 2009).

En el primero de los estudios realizados por Botelho, Cortés y Conde en 2005 (datos no publicados) se evaluó los efectos del alojamiento individual crónico sobre cambios comportamentales compatibles con anhedonia, manifestaciones comportamentales de tipo ansioso y la actividad exploratoria en ratas. En cuanto al síntoma anhedónico se evaluó la preferencia por el consumo de dos concentraciones de sacarosa (0.7% Vs 32%); las manifestaciones comportamentales de tipo ansioso se evaluaron por medio del Laberinto en Cruz Elevado (LCE) y la actividad exploratoria mediante el modelo de Campo Abierto (CA). De manera general, el alojamiento individual crónico produjo un perfil anhedónico evidenciado por el aumento en el consumo de sacarosa y ansiogénico en el LCE sin afectar la actividad exploratoria para reconocimiento de objeto.

Con el fin de brindar mayor soporte a los resultados encontrados en la anterior investigación, Botelho, Martínez y Conde (2008) (datos no publicados) evaluaron las manifestaciones comportamentales de tipo depresión-ansiedad en ratas sometidas a aislamiento social crónico, evaluándose la preferencia por diferentes concentraciones de solución de sacarosa (4%, 8%, 16% y 32%). Los animales expuestos a aislamiento consumieron mayores cantidades de solución al 32% que los controles (agrupados), concluyendo así, que soluciones poco concentradas tienen un bajo valor de recompensa, llevando al animal a preferir las soluciones más concentradas.

Por último, en el estudio realizado por Botelho, Rodríguez, Santos y Conde (2009) (datos no publicados), también se demostró que en comparación con los animales alojados en grupo, los animales sometidos al ASC consumieron más de la solución de sacarosa al 32%, fortaleciendo la hipótesis planteada por Botelho et al. (2005) y Botelho et al. (2008) de que la preferencia por el consumo de soluciones muy concentradas de sacarosa (32%) en ratas sometidas a aislamiento social crónico está asociada a un perfil anhedónico en estos animales, probablemente, como consecuencia de una disfunción del sistema dopaminérgico. Según dichos autores, el poco valor recompensante o el incremento en el umbral del placer, favorecen a que el animal no consuma las soluciones de sacarosa poco concentradas en grandes cantidades. Posiblemente, dichas concentraciones no son lo suficientemente recompensantes para activar el sistema dopaminérgico en los animales estresados crónicamente, ya que este sistema es el que se encuentra implicado con el aprendizaje y la recompensa (Hall et al., 1997; Roso, Alonso & Brugue, 2008).

En relación con los resultados obtenidos por los trabajos antes mencionados, se ha demostrado la importancia de la función dopaminérgica en el sistema de recompensa, siendo éste el que responde a hechos placenteros o de desagrado (Hall et al., 1997). Así mismo, y considerando que este sistema es activado por las recompensas (Heffner et al., 1977; Hernández, Guzmán & Hoebel, 1991; Hernández & Hoebel, 1988; Juárez, 2007a; Phillips et al., 1989), la función mesolímbica dopaminérgica ha sido demostrado estar implicada en el consumo de estímulos placenteros (Masi et al., 2001; Wang et al., 2004), siendo crucial para los efectos reforzantes, incluyendo el refuerzo simulado del cerebro por drogas recompensantes y comida (Hernández et al., 1991).

A favor de lo anterior, en un estudio realizado por Muscat, Papp y Willner (1992b), se demostró que el consumo soluciones dulces al 1% de ratas sometidas previamente a

estrés crónico impredecible es reducido, lo cual puede ser revertido por el tratamiento crónico (nueve semanas) con antidepresivos atípicos como la Fluoxetina y Maprotilina (5 mg/Kg/día). Según dichos autores, los resultados sugieren, que el bajo consumo de soluciones de sacarosa al 1% de los animales expuestos de manera secuencial crónica a una variedad de estresores es revertido por el tratamiento crónico con antidepresivos, probablemente, por producir un aumento en los niveles de dopamina (DA) en el cerebro, posiblemente en el núcleo accumbens, lo que conllevaría a revertir el efecto anhedónico producido por el estrés crónico en animales (Muscat et al., 1992b).

El trabajo realizado por Papp et al. (1993) corroboró los hallazgos sobre la implicación de la proyección mesolímbica dopaminérgica en las respuestas recompensantes. En este estudio fue demostrado que ratas sometidas a estrés crónico moderado por un total de nueve semanas, reducen el consumo de solución de sacarosa al 1% y que este patrón de consumo es revertido luego de cuatro inyecciones de Quimpirole (1ml/Kg), un agonista de receptores dopaminérgico de tipo D₂, demostrando que la ingesta reducida de sacarosa en los animales estresados está asociado a una hipofunción dopaminérgica, en particular del núcleo accumbens (Hall et al., 1997; Papp et al., 1993), la cual parece modular el efecto de incentivo motivacional de la sacarosa.

Considerando la controversia con respecto a la definición operacional de anhedonia en ratas y con el propósito de probar la hipótesis de que la preferencia aumentada por el consumo de solución de sacarosa al 32% está asociada con una baja sensibilidad a la recompensa, como resultado de una disfunción en el sistema dopaminérgico, se plantea la siguiente pregunta:

¿La administración aguda de Bromocriptina, un agonista de receptores D_2 y D_3 , disminuye la preferencia por el consumo de soluciones de sacarosa al 32 % en ratas sometidas al aislamiento social crónico?

HIPÓTESIS

Si la preferencia por el consumo de sacarosa al 32% en ratas sometidas al aislamiento social está asociada con una baja sensibilidad a la recompensa como consecuencia de una disfunción del sistema dopaminérgico, la administración de un agonista dopaminérgico debería disminuir el consumo de dicha solución.

REFERENTE CONCEPTUAL

Depresión.

La National Institutes of Mental Health (2004) ha reportado que la depresión es generada por la combinación de factores genéticos, bioquímicos, ambientales y psicológicos. Además, refiere que todas las personas en algún momento de la vida pueden tener sentimientos de tristeza de corta duración; pero, cuando estos sentimientos lleguen a afectar o intervenir en la vida diaria y el funcionamiento normal de las actividades de una persona, se puede estar considerando la presencia de un desorden depresivo.

La depresión es referida como una enfermedad que afecta al organismo (cerebro), el ánimo y la manera de pensar (Guadarrama et al., 2006), no depende de una cultura específica, condición social, nivel socio-cultural o condición económica (Montes, 2004). Igualmente, tampoco depende del género, ya que se presenta de modo indistinto en personas de ambos sexos, aunque existe una mayor prevalencia en la población femenina que en la masculina, siendo en las mujeres de un 9.5% y en los hombres del 5.8% (Escudero, 2006). Por lo tanto, considerando que un 5% de la población mundial presenta algún trastorno depresivo, su elevada morbilidad y que evoluciona desfavorablemente generando consecuencias graves como el suicidio, dicha patología es catalogada como un problema de salud pública (Montes, 2004).

Considerando la importancia de factores biológicos como la genética, una variedad de enfermedades físicas así como el uso de algunos medicamentos y el estrés en la etiología de la depresión, dicha patología es mejor entendida como el resultado de la acumulación de un número de diferentes factores de riesgo. Sin embargo el estrés ha

sido considerado uno de los factores etiológicos más importantes asociados a esta patología (D'aquila et al., 1994; Muscat et al., 1992b; Sheline, 2000).

Walter B. Cannon en 1920, citado por Lazarus (1993), introdujo y usó por primera vez el término “estrés” en la medicina para hacer referencia a las condiciones internas y externas bajo las cuales el organismo responde con activación del sistema nervioso simpático restaurando el equilibrio del medio interno. Años más tarde, Hans Selye definió al estrés como el estado del organismo manifestado por un síndrome inespecífico, que consiste en una serie de cambios dentro del sistema biológico que buscan hacer frente a la emergencia, llegando a conocerse como el “Síndrome General de Adaptación”. Estas definiciones de estrés se generalizan como una perturbación de la homeostasis e incluyen el estresor, la respuesta al estresor y los cambios fisiológicos entre el estresor y la reacción corporal (Gonzales & Escobar, 2002).

Los estresores, externos o internos, pueden actuar de manera aguda o crónica y la intensidad de sus efectos depende de la experiencia de cada individuo (Gonzales & Escobar, 2002). Por ello, si la exposición al agente estresante es excesiva, repetitiva y prolongada en el tiempo, la permanencia de los mecanismos adaptativos, transforma un mecanismo protector y de ajuste transitorio, en otro con alto poder patogénico generando patologías físicas y psicológicas, entre estas la depresión (Molina, Gutiérrez, Hernández & Contreras, 2008). Actualmente, se considera que el concepto de estrés denota la relación que existe entre estímulos aversivos que perturban gravemente la homeostasis del organismo y las respuestas, fisiológicas y conductuales, ante la estimulación aversiva (González & Escobar, 2006).

Ahora bien, desde un referente sintomatológico, la depresión es categorizada por la Asociación Americana de Psiquiatría en el DSM-IV TR (2002) como un trastorno del estado de ánimo, el cual consta de los siguientes síntomas: bajo estado de ánimo la

mayor parte del día, disminución acusada del interés o de la capacidad para el placer en todas o en casi todas las actividades, pérdida importante del peso o aumento de peso, pérdida o aumento del apetito, insomnio o hipersomnias, agitación o enlentecimiento psicomotores, fatiga o pérdida de energía, sentimientos de inutilidad o de culpa excesivos o inapropiados, disminución de la capacidad para pensar o concentrarse y pensamientos recurrentes de muerte.

Se considera que los sujetos que cumplen con los criterios de un episodio depresivo, es decir, los síntomas clínicos antes descritos, durante un periodo de tiempo determinado, son catalogados con dicho diagnóstico. Sin embargo, el diagnóstico de un trastorno depresivo mayor requiere la presencia de uno o ambos de los dos síntomas centrales: bajo interés o bajo placer (anhedonia) y humor deprimido (DSM-IV TR, 2002).

Anhedonia.

El término "anhedonia" fue propuesto en 1974 por Klein (Willner, 1996), y definido por el Psicólogo francés Théodule Ribot en 1896 como una inhabilidad hacia la experiencia placentera (Willner, 1995b). Clínicamente, ha sido considerado un síntoma central de la depresión (Willner, 1995b), aunque, a lo largo de la historia y en lo relatado por diversos autores, la anhedonia se ha visto implicada en diferentes trastornos como la distimia, la esquizofrenia, la ansiedad, la ideación suicida y como una de las características de los dependientes del consumo de alcohol (Gilbert et al., 2002). Ha predominado desde el estudio de los trastornos del estado de ánimo, como síntoma que implica pérdida o disminución severa para encontrar placer en situaciones que normalmente debían producirlo o antes habían sido placenteras (Hernández, 2000).

Particularmente, Gilbert et al. (2002) y Hall et al. (1997), sugieren que la anhedonia refiere carencia en la afectividad positiva, es decir, en los sentimientos de alegría, entusiasmo y placer; y a su vez implica experimentar con periodicidad afectividad negativa, como lo es, sentimientos de desinterés, amargura, cólera y miedo. Desde el punto de vista de estos autores, estos sentimientos, tanto los positivos como los negativos no son polos opuestos, por el contrario, son complementarios y se encuentran mediados por los sistemas de recompensa.

Ahora bien, la anhedonia puede ser comprendida desde dos concepciones diferentes; la primera, tipificada por algunos sistemas diagnósticos como una apatía general en la realización de casi todas las actividades, un interés disminuido en estas y una deficiencia en la gratificación, así como la reducción del afecto positivo (Gilbert et al., 2002). Una segunda aproximación, la describe como el resultado de la disfunción en el sistema de refuerzo y se limita a las manifestaciones físicas (Willner, 1995b; Gilbert et al., 2002).

Modelos animales.

Varios estudios han sido realizados con el fin de comprender la fisiopatología y farmacología de diferentes patologías. Considerando las limitaciones éticas que involucran los estudios con humanos, se han creado herramientas capaces de simular o reproducir un fenómeno psicopatológico de tal forma que sus variables puedan ser manipuladas y controladas en la forma más eficiente posible. Por esto, se ha dado paso al diseño de los modelos animales, ya que permiten simular características de un estado patológico (Botelho & Conde, 2001; Matthews et al., 2005; Wall & Shani, 2008).

Particularmente en el estudio de la depresión, la gran dificultad radica en cómo modelar los estados deprimidos en animales. Para ello, McKinney y Bunney en 1969 (Willner, 1995a) al igual que Schweizer et al. (2009) sugirieron algunas posibilidades. Para estos autores, la depresión se constituye en un síndrome caracterizado por la presencia de síntomas primarios tales como: el humor deprimido y desespero emocional, y secundarios como el aislamiento social, retardo psicomotor, anorexia, pérdida de peso y disturbios del sueño. No siendo posible evaluar objetivamente los síntomas primarios que estos autores refieren en los animales, ellos proponen utilizar el término depresión en un sentido operacional para describir las alteraciones comportamentales observables que están comúnmente asociadas con la depresión en humanos, siendo estos los síntomas secundarios. Adicionalmente, Paul Willner (1990) sugiere la evaluación de los estados motivacionales, persistencia disminuida e insensibilidad a la recompensa (anhedonia).

Uno de los modelos más utilizados en la investigación para evaluar la anhedonia, es el modelo animal de Estrés Crónico Moderado, conocido por sus siglas en inglés Chronic Mild Stress (CMS). Este modelo se basa en las observaciones hechas por Katz a finales de 1980 soportadas por una combinación única de validez predictiva (perfil farmacológico), de validez aparente (perfil de los síntomas) y de validez de constructo (justificación teórica) realizada por Willner en 1997 (Hu, Su, Xu, Zhang & Wang, 2010). El modelo de CMS, consiste en someter el animal al aislamiento durante 4 semanas, y además de ello, proporcionar diferentes factores estresantes, como lo son: la privación de comida por un periodo determinado, acceso restringido a la alimentación (2 horas), privación de agua (16 horas), exposición a una botella vacía durante una hora, dos periodos de iluminación nocturna, dos de inclinación de la jaula a 45°, un periodo

corto de alojamiento en grupo (17 horas), un periodo de 17 horas con la caja sucia (suelo húmedo), entre otros.

Uno de los modelos animales de gran utilidad para modelar la etiología de la depresión es el de ASC. Dicho modelo consiste en mantener a un único animal, bajo condiciones ambientales estables, en una caja de acrílico, en la misma habitación con las demás ratas, manteniendo contacto olfativo, visual y auditivo con sus coespecíficos, pero no contacto físico (Becerra, 2003; Fabricius, Helboeb, Steiniger-Brachc, Fink-Jensend, & Pakkenberge, 2010). Desde este punto de vista, la carencia del contacto físico, genera una gama de reacciones comportamentales y fisiológicas que afectan la reactividad emocional de las ratas, produciendo un síndrome comportamental que incluye hiperactividad en un ambiente nuevo, un incremento en la exploración, una respuesta aumentada a los refuerzos y perseverancia (Hall et al., 1997). Adicionalmente, la falta de contacto con sus coespecíficos o privación social, genera a largo plazo una variación significativa de las conductas motoras, perceptuales, emocionales, al igual que múltiples déficits cognitivos (Becerra, 2003; Fabricius et al., 2010), demostrando la importancia de los efectos del aislamiento al inicio de la vida sobre el desarrollo posterior y la aparición de la depresión (Botelho & Conde, 2001; Matthews & Robbins, 2003; Wallance, Han, Graham, Green, Vialou, Iñiguez et al., 2009).

Otra de las pruebas desarrolladas para evaluar la emocionalidad de roedores es la Prueba de Campo Abierto (CA), descrita por Hall en 1934, y hoy considerada como uno de los procedimientos más populares en la psicología animal (Prut & Belzung, 2003). Dicha prueba implica diferentes versiones, que varían en la forma del instrumento (circulares, cuadradas o rectangulares), cantidad y tipo de iluminación (iluminación desde arriba con una bombilla encima del campo abierto o la iluminación desde abajo con una bombilla colocada debajo de un piso transparente, a veces se utiliza la luz roja)

y la utilización o no de objetos dentro del campo, como plataformas, columnas y túneles. El procedimiento implica colocar el animal en el centro o cerca de las paredes del aparato y el comportamiento se registra por un período que puede variar entre 2 a 20 minutos, siendo comúnmente utilizado 5 minutos de exposición, en el cual se registran comportamientos como la locomoción (número de cruzamientos o de cuadrados atravesados), la frecuencia de levantamientos o *rearing* (a veces llamado actividad vertical) y aseo o *grooming* (prolongado lavado de pelo). Generalmente, los roedores prefieren espontáneamente explorar la periferia del aparato, evitando así la actividad en la parte central del campo abierto. Las conductas como aumento del tiempo de permanencia en la parte central del campo han sido utilizadas como indicadores de ansiolisis (Prut & Belzung, 2003; Choleris et al., 2001). Adicionalmente, según estos mismos autores, el aumento de la locomoción ha sido interpretado como un efecto estimulante, mientras que una menor actividad y locomoción se relacionan con sedación. De esta manera, el Campo Abierto se constituye en una herramienta útil para la evaluación de las manifestaciones conductuales (actividad locomotora) y emocionales (comportamiento de ansiedad) en roedores (Choleris et al., 2001).

Además de los indicadores comportamentales de emocionalidad, los diferentes estudios que utilizan modelos animales, evalúan concomitantemente, respuestas fisiológicas ante la situación de estrés, como indicadores objetivos de la respuesta emocional. Unas de las respuestas comúnmente evaluadas es el tamaño de las glándulas adrenales y los niveles de glucosa como consecuencia a la activación del eje hipotálamo - pituitaria - adrenocortical, la cual genera en el organismo una abundante liberación de corticosterona, con el fin de contribuir a la movilización de los sustratos energéticos y promover la homeostasis orgánica (Gonzalez & Escobar, 2002, 2006; Pauli, Gomes & Luciano, 2006). Dicha liberación hormonal, genera un incremento en el tamaño de las

glándulas adrenales (Rygula et al., 2005) y alteración de los niveles de glucosa en la sangre, la cual se da como respuesta al gasto energético que implica la exposición al estrés (Fone & Parkess, 2008; Mathews, Holde & Van, 1998). En este sentido, diversos estudios han demostrado que el aislamiento social produce aumento del peso de las glándulas adrenales (Baldwin, Wilcox, Bayliss, 1995; Biagini, Pich, Carini, Marramma & Agnati, 1998; Hatch, Wiberg, Balazs & Grice, 1963; McCormick, Kehoe, Kovacs, 1998; Nuñez et al., 1999). Adicionalmente, la literatura reporta que ratas adultas sometidas a una situación de estrés agudo presentan aumento en los niveles de glicemia (Nonogaki & Iguchi, 1997; Nonogaki, 2000), y de igual forma Romeo, Karatsoreos, Ali & McEwen (2007) reportan que en ratas jóvenes se presenta el mismo patrón.

De esta forma, el pesaje de las glándulas adrenales y la medición de los niveles de glicemia, constituyen un indicador objetivo de la respuesta del organismo a un evento estresor.

Prueba de Consumo de Sacarosa.

La sacarosa ha sido considerada un reforzador primario que forma parte del repertorio básico de cada individuo y el efecto positivo del reforzador es innato, generando un estado de satisfacción (Hall et al., 1997; Juárez, 2007a; Kanarik et al., 2009). Por eso, la sacarosa ha sido utilizada en los estudios de los procesos neurobiológicos, debido a que permite evaluar en el roedor la disminución en el interés y la alteración hacia estímulos gratificantes, características consideradas como análogas al síntoma anhedónico. De la misma manera, en otras investigaciones se han utilizado también el consumo de soluciones de sacarina como medida del estado hedónico en ratas (Matthews & Robbins, 2003).

De esta manera, la medición de la respuesta a estímulos recompensantes ha sido realizada mediante la exposición del animal a la prueba de consumo de sacarosa (PCS), la cual consiste evaluar la preferencia por diferentes concentraciones de sacarosa o agua pura (Brenes et al., 2008, 2009). En este contexto, los estudios realizados con modelos animales han arrojado una gran controversia frente a la definición del síntoma anhedónico. Uno de ellos es el caso que se presenta con el modelo de CMS, en el cual el consumo de sacarosa a bajas concentraciones (1% y 7%) se ve reducido, lo que ha sido interpretado como baja sensibilidad a la recompensa (Matthews & Robbins, 2003; Kanarik, Kõiv, Matrov & Harro, 2009). Estos resultados se han obtenido continuamente en las investigaciones realizadas por Willner.

Willner et al. en 1987 expusieron ratas durante 5 - 9 semanas a CMS. En este trabajo se realizaron cuatro experimentos: el primer experimento evaluó los efectos del estrés crónico leve en el consumo de sacarina (0.1%) y la preferencia de los animales por esta solución; el segundo experimento, examinó la preferencia por la sacarosa (1%) y salina (0.5%), y los efectos de la desmetilimipramina (6.0 mg/kg), un antidepresivo tricíclico (DMI); en el tercer experimento se evaluó los efectos del estrés y DMI sobre la preferencia por la sacarosa, examinando sus efectos sobre los niveles sanguíneos de corticosterona y glucosa; y en el último experimento se examinó el efecto de una solución más baja de DMI con una solución de sacarosa. En los resultados se observó una reducción del consumo y la preferencia de la sacarina o soluciones de sacarosa, déficits que tomaron por lo menos 2 semanas para desarrollarse y se mantuvieron durante más de 2 semanas después de finalizar el régimen de estrés; además, la preferencia de sacarosa no se vio afectada por una semana de tratamiento con el antidepresivo tricíclico DMI.

Seguido de este trabajo Muscat et al. (1992a), realizaron una investigación utilizando el modelo de CMS en tres experimentos, encontrando que los animales expuestos al modelo disminuyen el consumo de solución de sacarosa al 1%, y que esta disminución pudo ser revertida por la administración de tres inyecciones semanales de Quimpirol (100-200 mg/kg) o Bromocriptina (2.5 mg/kg). Este trabajo arroja los mismos resultados que el realizado en 1993 por Papp et al. en el que los animales bajo el mismo modelo y bajo la misma concentración de sacarosa (1%) disminuyeron el consumo, lo que fue revertido por la administración de Quimpirol (0-400 mg/kg).

Por otro lado, y contrario a lo que se ha encontrado cuando se utiliza el modelo de CMS, en algunos estudios en los que se han sometido animales a ASC se evidencian un incremento en el consumo de soluciones al 32%, lo que se ha interpretado como valor de incentivo de aumentado (Brenes & Fornaguera, 2008, 2009; Sammut et al., 2002). Estos estudios han sido corroborados sistemáticamente por los trabajos realizados en nuestro laboratorio lo que ha sido igualmente interpretado como una baja sensibilidad a la recompensa (Botelho et al., 2005; Botelho et al., 2008; Botelho et al., 2009).

En el primero de los estudios realizados por Botelho et al. (2005) (datos no publicados) se evaluó el efecto del alojamiento individual crónico sobre los cambios comportamentales compatibles con anhedonia, manifestaciones comportamentales de tipo ansioso y la actividad exploratoria en ratas. En relación al síntoma anhedónico se evaluó la preferencia por el consumo de dos concentraciones de sacarosa (0.7% y 32%); las manifestaciones comportamentales de tipo ansioso se evaluaron por medio del LCE y la actividad exploratoria mediante el modelo de CA. Entre los resultados obtenidos, se encontró que el alojamiento individual crónico produjo un perfil anhedónico demostrado en el aumento por el consumo de sacarosa y ansiogénico en el LCE sin afectar la actividad exploratoria para reconocimiento de objeto.

En una siguiente investigación, realizada por Botelho et al. (2008) (datos no publicados) se buscó brindar mayor soporte a los resultados anteriormente mencionados; aquí se evaluaron las manifestaciones comportamentales de tipo depresión-ansiedad en ratas sometidas a aislamiento social crónico, evaluando la preferencia de diferentes concentraciones de solución de sacarosa (4%, 8%, 16% y 32%). Dicho trabajo arrojó resultados en los que los animales en aislamiento consumieron mayores cantidades de solución al 32% que los controles (agrupados), concluyendo así, que soluciones poco concentradas tienen un bajo valor de recompensa, llevando al animal a preferir las soluciones más concentradas.

Seguido de esto, los resultados arrojados en otro de los trabajos realizados por Botelho et al. (2009) (datos no publicados), fortalecen la hipótesis planteada por Botelho et al. (2005) y Botelho et al. (2008) sobre la preferencia por el consumo de soluciones muy concentradas de sacarosa (32%) en ratas sometidas a aislamiento social crónico, encontrando que esta preferencia está asociada a un perfil anhedónico, probablemente, como consecuencia de una disfunción del sistema dopaminérgico. Según dichos autores, el poco valor recompensante o el incremento en el umbral del placer, favorecen a que el animal no consuma las soluciones de sacarosa poco concentradas en grandes cantidades.

Anhedonia y Sistema Mesolímbico Dopaminérgico.

Dando seguimiento a lo anterior, resultados obtenidos en diferentes trabajos han reportado la importancia del sistema mesolímbico dopaminérgico en los sistemas de recompensa, sugiriendo que la utilización de alojamiento individual y la manipulación farmacológica de este sistema puede ser una buena alternativa para el aporte al

conocimiento de los mecanismos asociados al trastorno depresivo (Muscat et al., 1992a).

Diferentes hallazgos de la literatura han demostrado la participación que el sistema dopaminérgico tiene en el control de la motivación y el comportamiento ante el refuerzo, de tal manera que una hipofunción del sistema dopaminérgico está asociada a una baja en o pérdida de la motivación o síntoma anhedónico (Basso et al., 2005; Hall, Wilkinson, Humby & Robbins, 1999; Sheline, 2000).

La Dopamina es reconocida como el neurotransmisor más importante del sistema nervioso central, y en el sistema nervioso periférico como el modulador de las siguientes funciones: cardíaca, tono muscular, motilidad gastrointestinal y renal; además, se encuentra relacionado con los mecanismos de recompensa en el cerebro (Bahena-Trujillo, Flores & Arias-Montaña, 2000).

El encéfalo contiene varios sistemas de neuronas dopaminérgicas. Los tres sistemas más importantes de estos se originan en el mesencéfalo en la sustancia negra y en el área tegmental ventral: el sistema Nigroestriatal, Mesolímbico y Mesocortical. El Sistema Nigroestriatal, es conformado por neuronas de la sustancia negra que proyectan sus axones al neostriado: el núcleo caudado y el putamen (Carlson, 2006). El neostriado es una parte importante de los ganglios basales, los cuales están implicados en el control del movimiento. El Sistema Mesolímbico, se origina en el área tegmental ventral y proyecta sus axones a varias partes del sistema límbico, incluyendo el núcleo accumbens, la amígdala y el hipocampo. Dentro de las estructuras mencionadas, es necesario resaltar que el núcleo accumbens desempeña un papel importante en los efectos de los reforzadores de ciertas categorías de estímulos. El Sistema Mesocortical se localiza en el área tegmental ventral proyectando sus axones a la corteza prefrontal, generando un efecto excitatorio en la corteza prefrontal y afectando las funciones de

memoria a corto plazo, la planificación y las estrategias de planificación para resolver problemas (Bahena-Trujillo, Flores & Arias-Montaña, 2000; Carlos, 2006).

Los estudios que involucran la neurotransmisión dopaminérgica muestran que los pacientes depresivos tienen una menor densidad de transportadores de Dopamina (DA) en áreas cerebrales específicas (Goodale et al., 2007), especialmente en el mesolímbico o estriatum. De esta manera, si se presentan cambios en la neurotransmisión dopaminérgica del Núcleo Accumbens (Nac) (fuerte regulador del placer), como los presentados en los pacientes depresivos, se puede producir una generalizada baja respuesta a los reforzadores (Papp et al., 1993). Por lo tanto, cualquier sustancia que en repetidas ocasiones provoque la liberación de DA o reduzca la recaptación de DA en las terminales nerviosas de estos circuitos como una sustancia de abuso, pueden tener efecto reforzador, así como el consumo de diferentes alimentos pueden liberar DA en el Nac, incluyéndose el azúcar, la sacarina y el aceite de maíz (Avena, Rada & Hoebel, 2008). Por otra parte, Pizzagalli et al. (2004) menciona que en el Córtex Prefrontal Subjenual (PFC), se encuentran regiones que reciben una gran inervación dopaminérgica de diversas áreas corticales; especialmente del área tegmental ventral que está relacionada con las respuestas hedónicas. De esta forma se resalta que las principales estructuras relacionadas con la producción dopaminérgica son: el núcleo accumbens (Nac) y el área tegmental ventral (Avena, et al; 2008; Bahena-Trujillo & Arias-Montaña, 2000).

El sistema dopaminérgico se comprende de dos familias de receptores, los D₁ y D₂; la familia de receptores D₁ está comprendida por los receptores D₁ y D₅, mientras que la familia D₂ se comprende de D₂, D₃ y D₄ (Bahena-Trujillo, Flores & Arias-Montaña, 2000; Möller, 2005). Los receptores D₁ desempeñan un papel crucial en el desarrollo de la adicción y se han relacionado con la sensibilización inducida por el consumo crónico

de drogas, en especial por los psicoestimulantes; el receptor D₂, según estudios realizados en roedores describe una regulación en el núcleo accumbens como en el estriado dorsal (Corominas, Romero, Burguera & Casas, 2007). El receptor D₃ ha estado relacionado con diversos desórdenes neuropsiquiátricos entre los que se considera la depresión y la esquizofrenia. Los receptores D₄ han sido reportados estar relacionados con los tratamientos de esquizofrenia, pero en los desórdenes de depresión aún no han sido investigado; su función está relacionada con la regulación de las emociones y la cognición en áreas como el córtex prefrontal y sistema mesolímbico (Basso et al., 2005). Los receptores D₅ son similares en su mecanismo de acción a los receptores D₁ pero con una afinidad diez veces mayor. Se encuentra en altas concentraciones en el hipocampo, giro dentado y el núcleo parafascicular del tálamo y en bajas concentraciones en la corteza y el striatum (Tamayo, 1999).

Los tratamientos antidepresivos en su mayoría generan un aumento de la función dopaminérgica en el sistema mesolímbico (Basso et al., 2005) incrementando la actividad funcional de la sinapsis dopaminérgica, y de esta misma forma, aumentando la también la actividad locomotora; como pudo ser identificado en el trabajo realizado Papp et al. (1993), en el que a las ratas se les indujo estrés crónico e inmediatamente se les administró Quimpirole Hydrochloride, un agonista de Dopamina (D₂/D₃) en concentraciones de 100ug/kg, 200 ug/kg y 400 ug/kg (1ml/kg) durante 3 semanas dos veces por semana. Según los resultados de este estudio, la administración de este medicamento fue capaz de recuperar los niveles normales de consumo de sacarosa en animales con estrés. Por otro lado, se ha demostrado que el Quimpirol tiene efectos comportamentales en la reducción de la actividad motora de las ratas sobre todo cuando se emplea en dosis de 0,25 y 0,5 mg/kg, administrándose por vía intraperitoneal (i.p) o subcutánea (s.c) (Willner, 1987; Muscat, 1992a; Muscat, 1992b). Estos resultados

sugieren, según algunos autores, que la función dopaminérgica, es modulada por el efecto de incentivo motivacional de la sacarosa (Muscat, 1992a; Muscat, 1992b; Willner, 1987).

Según los resultados reportados por Papp et al. (1993), el Quimpirol, es un medicamento que presenta las propiedades adecuadas para poder aclarar la incongruencia entre el consumo de sacarosa en los animales a una concentración de 32%. No obstante, este medicamento no ha sido utilizado en humanos y las facilidades de comercialización son escasas o muy prolongadas. Entretanto, un fármaco más asequible y comúnmente utilizado es la Bromocriptina (BCT), un agonista de los receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 al igual que el Quimpirol y conocido comercialmente como Parlodel. En las investigaciones realizadas en animales (ratas), este fármaco ha sido administrado por vía intraperitoneal (i.p) o subcutánea (s.c) (Kan, Kau, Low-Tonc & Wang, 2003), y dentro de los estudios en los que la han utilizado se han encontrado rastros en el cuerpo estriado. Por otra parte se reporta que la BCT puede inducir alucinaciones o confusión, similar a la observada a los tratamientos con levodopa. Estos efectos suelen limitar la dosis de BCT que pueden ser prescritos. También puede inducir efectos adversos periféricos, activar los receptores de dopamina vasculares y producir hipotensión ortostática (caída de la presión arterial sanguínea). Además, si se ha recibido una dosis inicial lo suficientemente grande puede desarrollar náuseas, vómitos e hipotensión (Vautier et al., 2006).

Coherente con la complejidad en el funcionamiento del sistema nervioso, el sistema dopaminérgico no es el único implicado en la neurobiología de la depresión. Al igual que éste, se encuentra el sistema serotoninérgico y el noradrenérgico (Nestler, Hyman & Malenka, 2001; Silveira, 1999) estos dos últimos sistemas fueron la base para el desarrollo de los principales fármacos antidepresivos. Con base en esto, Muscat et al.

(1992b) encontraron que la administración crónica de fármacos antidepresivos como la Fluoxetina y la Maprotilina revierten la reducción del consumo de solución de sacarosa al 1%. Sin embargo y de igual forma, para estos autores ambos fármacos actúan respectivamente en los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico potencializando la transmisión dopaminérgica en el núcleo accumbens y mejorando el síntoma anhedónico. Por otra parte, se ha encontrado evidencia de un decrecimiento en la respuesta a reforzadores debido a un cambio en la neurotransmisión dopaminérgica en el Núcleo Accumbens (Norgren, Hajnal & Mungarndee, 2006; Papp et al., 1993).

Considerando que la Bromocriptina actúa sobre el sistema dopaminérgico y que dicho sistema ha sido demostrado estar asociado con la respuesta a la recompensa, el presente estudio pretende evaluar los efectos de este medicamento sobre el consumo de solución de sacarosa al 32%, con el propósito de probar la hipótesis de que un elevado consumo de soluciones de sacarosa por los animales sometidos al ASC está asociado a una disfunción del sistema dopaminérgico.

METODOLOGÍA

Diseño:

Para la presente investigación se utilizó un diseño de tipo experimental donde se buscó evaluar el efecto de la administración aguda de Bromocriptina (variable independiente) sobre el consumo de sacarosa en ratas sometidas a aislamiento social (variable dependiente), tomando como cambios comportamentales aquellos presentados en el consumo de una solución de sacarosa al 32%, los cuales fueron evaluados con la prueba de consumo de sacarosa.

Animales:

Fueron utilizadas 96 ratas Wistar machos provenientes de la cepa de la Universidad Industrial de Santander (UIS), entre los 49 y 56 días posnatales y con un peso promedio entre 230 y 244 gramos (gr.); Antes de cualquier manipulación los animales pasaron por un periodo de habituación de 6 días en el Bioterio de la Universidad Pontificia Bolivariana alojados en grupos de seis por caja.

Durante su permanencia en el laboratorio, los animales tuvieron acceso libre a comida y agua, siendo manipulados únicamente, según necesidades de suministro y aseo de acuerdo a los criterios éticos de experimentación animal (Ley 84 de diciembre de 1989, artículo 23). En el bioterio se mantuvo un esquema de luminosidad controlada (ciclo de 12 horas claro/oscuras, 7:00 PM a 7:00 AM) y una temperatura ambiente de 22°. Todos los experimentos fueron realizados durante la fase clara del ciclo.

Fármacos:

Se utilizó Bromocriptina Mesilato (BTC) conocida comercialmente con el nombre de Parlodel, adquirida en Laboratorios Novartis Biociencias S.A en comprimidos de 2.5 mg, la cual se diluyó en 1 ml de solución salina (NaCl, 0,9%). Durante los dos días consecutivos de evaluación del consumo se administró vía subcutánea (s.c), una dosis de 2.5 g en un volumen de 1 ml (Muscat, 1992a) tres horas antes de la prueba de consumo de sacarosa, teniendo en cuenta que la vida media del fármaco es de 3- 5 horas (Lilley & Aucker, 2000). El grupo control recibió la misma dosis y volumen de salina por la misma vía.

Instrumentos:

Cajas de acrílico (23 x 23 x 34 cm): Fueron utilizadas durante todo el procedimiento experimental para el alojamiento individual de los animales (grupo de animales alojados individualmente), y para la exposición a la prueba de consumo de sacarosa.

Cajas de acero inoxidable (40 x 33 x 16 cm): Estas cajas fueron utilizadas para el mantenimiento de todos los animales (seis por jaula) durante el periodo de habituación (seis días) a las condiciones del laboratorio, y también para el alojamiento de los animales controles en grupo de 6 por caja.

Prueba de Consumo de Sacarosa: Con esta prueba se evalúa en el roedor la respuesta a la recompensa midiendo la preferencia por las soluciones de sacarosa o agua

pura ofrecidas simultáneamente en bebederos con capacidad de 270 gr. Los sujetos fueron expuestos a una solución de sacarosa al 32% y agua pura durante 60 minutos en una sala experimental sin previa privación de comida y agua. El consumo fue medido considerando el peso (gr) del bebedero antes y después de la hora de evaluación del consumo. Para esta prueba fueron utilizadas las siguientes herramientas: cajas de acrílico transparente de 23 x 23 x 34 cm para el alojamiento de los animales durante la exposición a la prueba y para la preparación de la solución de sacarosa se utilizó un matraz volumétrico y un agitador magnético con su respectiva bala magnética la cual garantiza la buena dilución de la solución de sacarosa.

Campo abierto: Considerando que la Bromocriptina actúa sobre el sistema dopaminérgico y que, por lo tanto, la utilización de la misma podría alterar la respuesta motora del animal, en el presente estudio se utilizó la prueba del Campo Abierto para evaluar el efecto del fármaco. El instrumento consta de un cajón cuadrado de madera barnizada (100 x 100 x 40 cm) dividido virtualmente en 9 cuadrantes (Figura 1), de los cuales hay uno central (Cuadrante No. 1) cuatro esquinas (Cuadrantes No. 2) y cuatro laterales (Cuadrantes No. 3). El instrumento fue colocado en un cuarto con protección acústica y un nivel de iluminación de 222 lux en el centro del campo. Al finalizar cada exposición, el cajón fue limpiado con alcohol al 10%. Cada animal fue colocado en el centro del cajón permitiéndole la exploración libre durante un periodo de cinco minutos. El registro del número total de cruzamientos realizados por los animales durante 5 minutos fue tomado como índice de la actividad locomotora.

Circuito cerrado de televisión: con este instrumento se realizó el registro videográfico de las sesiones experimentales para posterior análisis comportamental. El circuito consta de cámara filmadora, televisor, VHS y Computador.

2	3	2
3	1	3
2	3	2

Grafica 1. Esquema de distribución de cuadrantes del Campo Abierto.

Programa de Registro (PROSTCOM): Este es un programa de cómputo que permite registrar el comportamiento de los animales durante la exposición a cualquiera de los modelos animales para un posterior procesamiento y análisis de los datos (Conde, Costa & Tomaz, 2000). En el caso particular del presente estudio se utilizó para registrar el comportamiento de los animales durante la exposición por 5 minutos al Campo abierto.

Procedimiento:

Todos los animales pasaron por un periodo de habituación de seis (6) días, luego fueron organizados en grupos (tabla 1) según el tipo de alojamiento (individual o social), el período (agudo o crónico) y el tratamiento (Salina o Bromocriptina). De esa manera el protocolo experimental fue realizado en dos fases.

Fase I. Alojamiento agudo (48 horas)

Una vez terminado el período de habituación, los animales fueron aislados socialmente (**AIS**, n = 24) o agrupados en 6 por jaula (**AGRU**, n= 24) durante 48 horas. Concluido este período, los animales tuvieron acceso a un bebedero que contenía una solución de sacarosa al 0,7% durante 13 horas (iniciando 7:00 PM), con el fin de habituar los animales al consumo de sacarosa y evitar la neofobia (Hall et al., 1997; Pinel, 2007). Culminadas las 13 horas, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos según tratamiento. De las 24 aisladas, 12 recibieron Bromocriptina (**AIS-BR**) iniciando a las 11:00 AM en intervalos de 15 minutos entre cada rata (garantizando la administración 3 horas antes de la prueba de consumo) y las otras 12 recibieron salina (**AIS-SS**). De las 24 ratas agrupadas, 12 fueron tratadas con Bromocriptina (**AGRU-BR**) y 12 con salina (**AGRU-SS**) (Ver tabla. 1).

Inmediatamente después de cumplir las tres horas de haber sido tratados con Bromocriptina o salina, cada animal fue sometido a la prueba de consumo de sacarosa (Agua pura Vs Sacarosa al 32%) durante 1 hora (según distribución aleatoria). La exposición a la prueba de consumo de sacarosa al 32% se realizó por dos días consecutivos iniciando a las 2:00 PM. En el primer día, después de terminada la prueba de consumo donde los bebederos fueron ubicados en la jaula de prueba siempre del mismo lado que estuvo disponible durante el período de neofobia, cada animal retornó a su condición de alojamiento (aislado o agrupado). En el segundo día también a las 11:00 AM se dio inicio nuevamente a los respectivos tratamientos con Bromocriptina o salina, siguiendo el mismo procedimiento del día anterior. Sin embargo, después de terminada la evaluación del consumo, cada rata fue expuesta inmediatamente al campo abierto

para evaluación de su actividad locomotora durante 5 minutos, al final de los cuales a cada rata se le midió el nivel de glucosa sanguínea y, posteriormente se les extrajeron las glándulas adrenales las cuales fueron pesadas. Ambas variables fueron utilizadas como medidas objetivas (fisiológicas) del estado emocional de las ratas.

Tabla 1.

Distribución en Grupos de los Animales Sometidos al Aislamiento Social Agudo según el Tratamiento. **AIS-SS**, aislados tratados con salina; **AIS-BR**, aislados tratados con Bromocriptina; **AGRU-SS**, agrupados tratados con salina; **AGRU-BR**, agrupados tratados con Bromocriptina.

Alojamiento	Tratamiento	Grupo	n
Aislado Socialmente	BR	AIS-BR	12
	SS	AIS-SS	12
Agrupado	BR	AGRU-BR	12
	SS	AGRU-SS	12

Fase II. Alojamiento crónico (21 días)

Una vez terminado el período de habituación, los animales fueron aislados socialmente (**AIS**, n = 24) o agrupados en 6 por jaula (**AGRU**, n= 24) durante 21 días. Concluido este período, los animales tuvieron acceso a un bebedero que contenía una solución de sacarosa al 0,7% durante 13 horas (inicio 7:00 PM), con el fin de habituar

los animales al consumo de sacarosa y evitar la Neofobia (Hall et al., 1997; Pinel, 2007). Culminadas las 13 horas, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos según tratamiento. De los 24 aislados, 12 ratas recibieron Bromocriptina (**AIS-BR**) iniciando a las 11:00 AM en intervalos de 15 minutos entre cada rata (3 horas antes de la prueba de consumo) y las otras 12 recibieron salina (**AIS-SS**). De las 24 ratas agrupadas, 12 fueron tratadas con Bromocriptina (**AGRU-BR**) y 12 con salina (**AGRU-SS**) (Ver tabla. 1).

Inmediatamente después de cumplir las tres horas de haber sido tratadas con Bromocriptina o salina, cada animal fue sometido a la prueba de consumo de sacarosa (Agua pura Vs Sacarosa al 32%) durante 1 hora (según distribución aleatoria). La exposición a la prueba de consumo de sacarosa al 32% fue realizada por dos días consecutivos iniciando a las 2:00 PM. En el primer día, después de terminada la prueba de consumo donde los bebederos fueron ubicados en la jaula de prueba siempre del mismo lado que estuvo disponible durante el período de neofobia, cada animal retorna a su condición de alojamiento (aislado o agrupado). En el segundo día también a las 11:00 AM se dio inicio nuevamente a los respectivos tratamientos con Bromocriptina o salina, siguiendo el mismo procedimiento del día anterior. Sin embargo, después de terminada la evaluación del consumo, cada rata fue expuesta inmediatamente después al campo abierto para evaluación de su actividad locomotora durante 5 minutos, al final de los cuales a cada rata se les midió el nivel de glucosa sanguínea y, posteriormente se les extrajeron las glándulas adrenales las cuales fueron pesadas. Ambas variables fueron utilizadas como medidas objetivas (fisiológicas) del estado emocional de las ratas.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para evaluar los efectos de la administración de la Bromocriptina sobre el consumo de sacarosa, en los días 1 y 2, de ratas sometidas al aislamiento social agudo y crónico, fueron utilizadas Análisis de Varianza de tres factores donde el *factor uno* estuvo relacionado con el tipo de alojamiento (aislados Vs agrupados); el *factor dos* con la duración del mismo (agudo y crónico) y, el factor 3 con el tipo de tratamiento farmacológico (Bromocriptina Vs Salina). De la misma manera, estos análisis fueron utilizados para evaluar el efecto del aislamiento social agudo y crónico sobre el número de cruzamientos en el Campo Abierto, así como sobre los niveles de glicemia. Sin embargo, para evaluar el efecto de la administración aguda de la Bromocriptina en ratas sometidas al aislamiento social agudo y crónico sobre el peso total de las glándulas adrenales, se utilizó un análisis de regresión lineal. Para todos los casos se utilizó una $p < 0,05$, como valor significativo.

RESULTADOS

Efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% en ratas sometidas al aislamiento social agudo y crónico.

Consumo del Día 1

El análisis de varianza de tres factores utilizado para evaluar el efecto del tipo de alojamiento (aislados Vs agrupados), la duración del mismo (agudo y crónico) y el tipo de tratamiento agudo (Bromocriptina Vs Salina) sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% en el día 1 reveló que, de manera general, no hubo un efecto atribuible al tipo de alojamiento ($F_{[1,112]}=0,0122$, $p < 0,912$), a la duración del mismo ($F_{[1,88]}=0,0422$, $p = 0,838$) ni al tratamiento farmacológico utilizado ($F_{[1,112]}=3,039$ $p = 0,084$). Sin embargo, se encontró interacción entre los factores tipo de alojamiento y duración del mismo ($F_{[1,112]}=11,779$, $p < 0,001$).

De manera general, el test de Bonferroni (**Figura 1**) mostró que los animales sometidos al alojamiento en grupo por un período agudo (48 horas) consumieron más de la solución de sacarosa al 32% en el día 1 que aquellos alojados en grupo por un periodo crónico ($t = 2,287$). Por el contrario, los animales sometidos a aislamiento social crónico consumieron más de la solución de sacarosa al 32% en el día 1 que los aislados por un periodo agudo ($t = 2,626$). Adicionalmente, de los animales alojados por un periodo crónico, aquellos que fueron sometidos a aislamiento social consumieron más de la solución de sacarosa al 32% en el día 1 que aquellos alojados en grupo ($t = 2,572$).

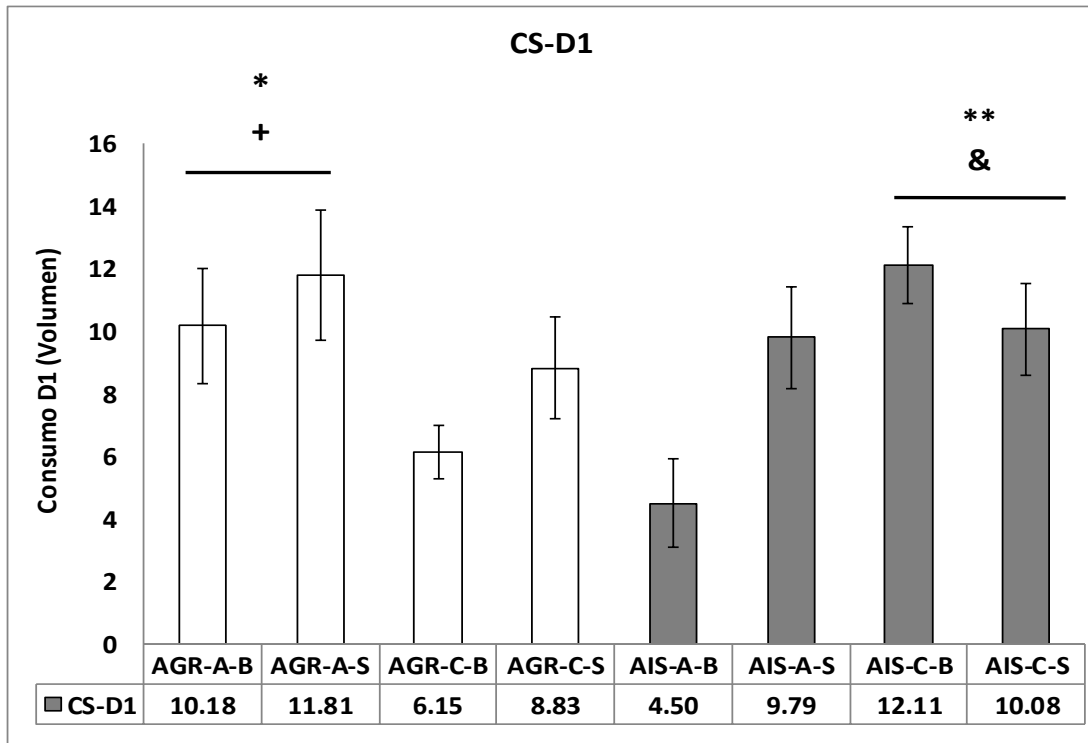


Figura 1. Consumo de sacarosa (CS) al 32% (volumen) en el día 1 (D1) de ratas sometidas al aislamiento social agudo y crónico y a la administración aguda de Bromocriptina (1ml/Kg). **AGR**, grupo de animales agrupados en 6 por jaula; **AIS**, grupo de animales aislados socialmente; **A**, alojamiento agudo; **C**, alojamiento crónico; **S**, tratamiento con salina; **B**, tratamiento con Bromocriptina. *, consumo de sacarosa al 32% de los animales alojados en grupo por un período agudo mayor que los animales agrupados por un período crónico. **, consumo de sacarosa al 32% de los animales sometidos al aislamiento social crónico mayor que el consumo de los animales sometidos al aislamiento social agudo. +, consumo de sacarosa al 32% de los animales sometidos al alojamiento en grupo por un período agudo mayor que los animales sometidos al aislamiento social agudo. &, consumo de sacarosa al 32% de los animales sometidos al aislamiento crónico mayor que el consumo de los animales sometidos al alojamiento en grupo por un período crónico.

Consumo Día 2.

El análisis de varianza de tres factores utilizado para evaluar el efecto del tipo de alojamiento (aislados Vs agrupados), la duración del mismo (agudo y crónico) y el tipo de tratamiento agudo (Bromocriptina Vs Salina) sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% el día 2 reveló que, de manera general, hubo un efecto atribuible al tipo de alojamiento ($F_{[1,112]}=36,221$, $p < 0,001$) y a la duración del mismo ($F_{[1,112]}=5,794$, $p = 0,018$). Sin embargo, no se encontró un efecto atribuible al tratamiento farmacológico utilizado ($F_{[1,112]}=3,529$, $p = 0,063$) ni interacciones entre los factores alojamiento, duración y tratamiento ($F_{[1,112]}=0,641$, $p = 0,425$). De manera general, el test de Bonferroni (**Figura 2**) mostró que los animales alojados en grupo consumieron más de la solución de sacarosa al 32% que los aislados socialmente ($t=6,018$). Adicionalmente, demostró que los animales sometidos al alojamiento crónico consumieron más de la solución de sacarosa que los animales sometidos al alojamiento agudo ($t=3,546$).

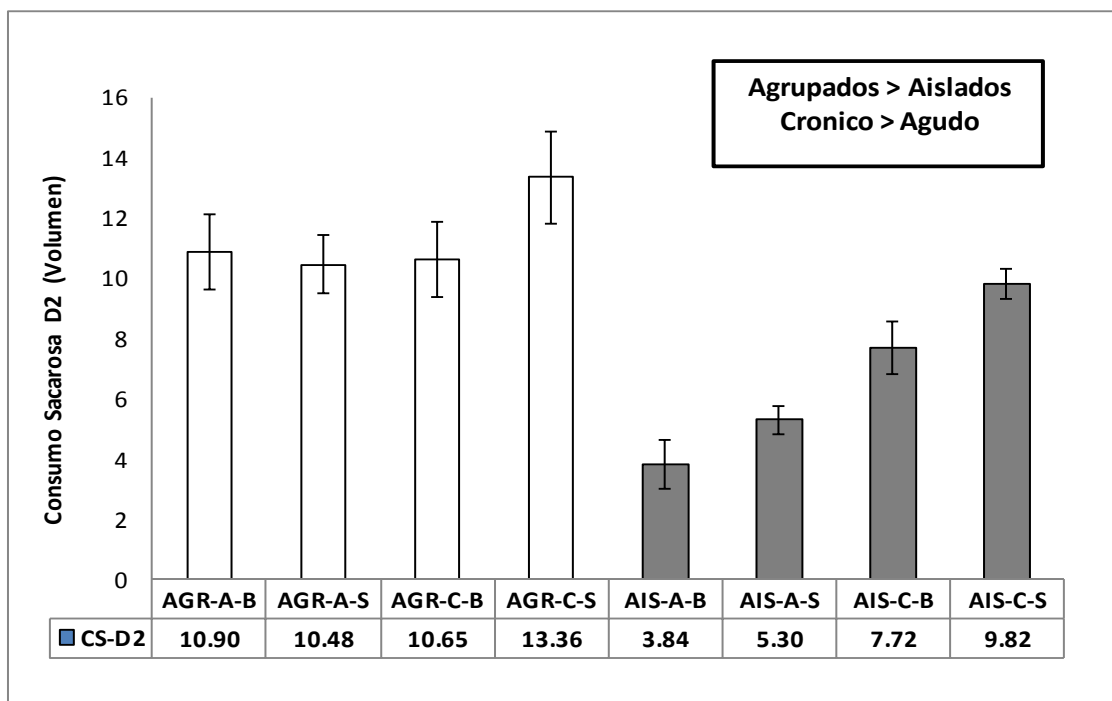


Figura 2. Consumo de sacarosa (CS) al 32% (volumen) en el día 2 (D2) de ratas sometidas al aislamiento social agudo y crónico y la administración aguda de Bromocriptina (1ml/Kg). **AGR**, grupo de animales agrupados en 6 por jaula; **AIS**, grupo de animales aislados socialmente; **A**, alojamiento agudo; **C**, alojamiento crónico; **S**, tratamiento con salina; **B**, tratamiento con Bromocriptina.

Efecto del aislamiento social sobre el peso de las glándulas adrenales de las ratas como indicador fisiológico de la respuesta de estrés.

Con el objetivo de contribuir a la comprensión de la respuesta fisiológica (peso de las glándulas adrenales) derivada de condición experimental a la que fueron expuestos los animales en el presente estudio, se procedió a realizar diferentes modelos de regresiones lineales incluyendo las variables tipo de alojamiento, duración del alojamiento, tratamiento farmacológico y peso de los animales. El modelo que mejor explicó el peso de las glándulas adrenales indicó que esta variable podría ser explicada significativamente cuando se incluyeron únicamente las variables “tipo de alojamiento y “peso de los animales”. Es decir, los resultados se pueden explicar por las variables tipo de alojamiento y peso del animal, sin un efecto significativo dado por la duración del alojamiento y el tipo de tratamiento farmacológico. Dichas variables explican la varianza del peso de la adrenal en un 12,2% (R_{qdr} ajustado= 0,122). El peso total de las glándulas adrenales incrementó si el animal había sido sometido al aislamiento social y si él era más pesado. La ecuación resultante de este modelo fue:

$$\text{Adrenal total mg} = 38.515 + (3.262 * \text{aloja}) + (0.0490 * \text{Peso})$$

Tabla 2. Efecto del aislamiento social sobre el peso de las glándulas adrenales (Regresión Linear Múltiple).

	Coefficiente Betha	Error Estandar	t	P	VIF
Constante	38.515	4.861	7.923	<0.001	
Aloja	3.262	1.475	2.212	0.029	1.022
Peso	0.0490	0.0175	2.807	0.006	1.022

Donde:

Aloja: tipo de alojamiento. En este caso se llamó de 1 al aislamiento social y se llamó de 0 al alojamiento en grupo.

Peso: peso del animal (en gramos).

Es importante notar que los coeficientes Betha asociados a Aloja y Peso son positivos (3,262 y 0, 0490, respectivamente). Esto indica que cuando el valor de Aloja era 1(unos), que corresponde al aislamiento social, tal condición aumentó el peso de las glándulas adrenales en 3.262 mg. Cuando el peso del animal era mayor, incrementó también el peso de las glándulas adrenales en 0, 0490 mg por cada gramo del animal.

Efecto del aislamiento social sobre los niveles de glicemia de ratas como otro indicador fisiológico de la respuesta de estrés.

Aunque no era un objetivo del estudio, otros análisis fueron realizados para evaluar el efecto del aislamiento social sobre los niveles de glicemia, como una respuesta más a la situación de estrés.

El análisis realizado (ANOVA de 3 factores) para evaluar el efecto del aislamiento social sobre los niveles de glicemia de las ratas, demostró que no hubo efectos atribuibles al tipo de alojamiento ($F_{[1,87]}=0,0742$, $p = 0,786$). No obstante, se encontró diferencias atribuibles al tipo tratamiento ($F_{[1,87]}=6,972$, $p = 0,010$) y a la duración del alojamiento ($F_{[1,88]}=45,386$, $p < 0,001$) (Figura 3). El análisis post hoc (t de Bonferroni) reveló que los animales sometidos al alojamiento agudo presentaron niveles de glicemia más elevados que los animales sometidos al alojamiento crónico ($t = 3,064$) y aquellos que recibieron Bromocriptina presentaron mayores niveles de glicemia que los que recibieron salina ($t = 2,640$) (t de Bonferroni, $p < 0,05$).

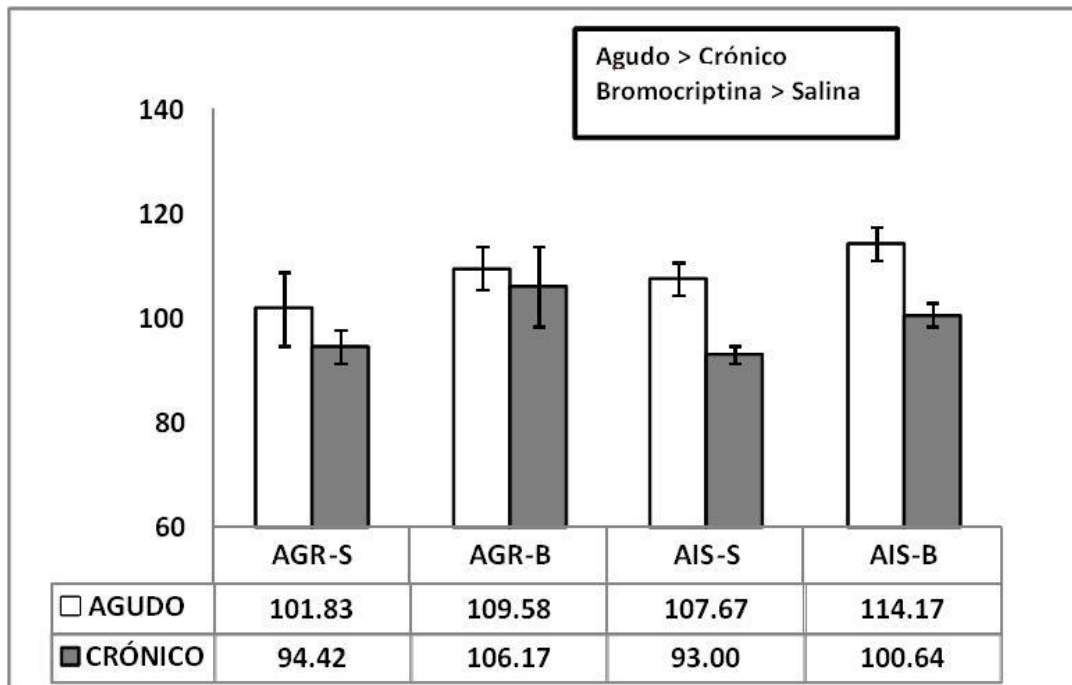


Figura 3. Efecto del aislamiento social sobre los niveles de glicemia. **AGR**, grupo de animales agrupados en 6 por jaula; **AIS**, grupo de animales aislados socialmente; **A**, alojamiento agudo; **C**, alojamiento crónico; **S**, tratamiento con salina; **B**, tratamiento con Bromocriptina (ANOVA de tres factores seguida del test t de Bonferroni, $p < 0,05$).

Efecto de la administración aguda de Bromocriptina en ratas sometidas al aislamiento social sobre la actividad locomotora en el campo abierto.

Adicionalmente, considerando que la Bromocriptina es un fármaco que actúa sobre el sistema dopaminérgico, el cual se encuentra relacionado con la función motora, dicho fármaco podría efectuar alteración de esta función, lo cual a su vez, sería interpretado como evidencia de que la administración del fármaco ejerció algún tipo de efecto en el animal; de esta manera se realizaron análisis adicionales para evaluar el efecto del tratamiento farmacológico (Bromocriptina Vs Salina) sobre la actividad locomotora de los animales en el campo abierto.

Con relación al número de cruzamientos en el campo abierto, el ANOVA de 3 factores no encontró efectos relacionados con el tipo de alojamiento ($F_{[1,85]}=3,160$, $p = 0,079$) ni al tipo de tratamiento farmacológico ($F_{[1,85]}=1,956$, $p = 0,166$), pero si con respecto a la duración del alojamiento ($F_{[1,85]}=4,361$, $p = 0,040$). El test t de Bonferroni (**Figura 4**) reveló que, de manera general, los animales sometidos al alojamiento agudo presentaron un mayor número de cruzamientos que los animales sometidos al alojamiento crónico ($t = 2,088$). Lo anterior podría ser interpretado como una respuesta comportamental secundaria a los efectos del estrés agudo producido por la exposición a un ambiente nuevo y a la manipulación del experimentador.

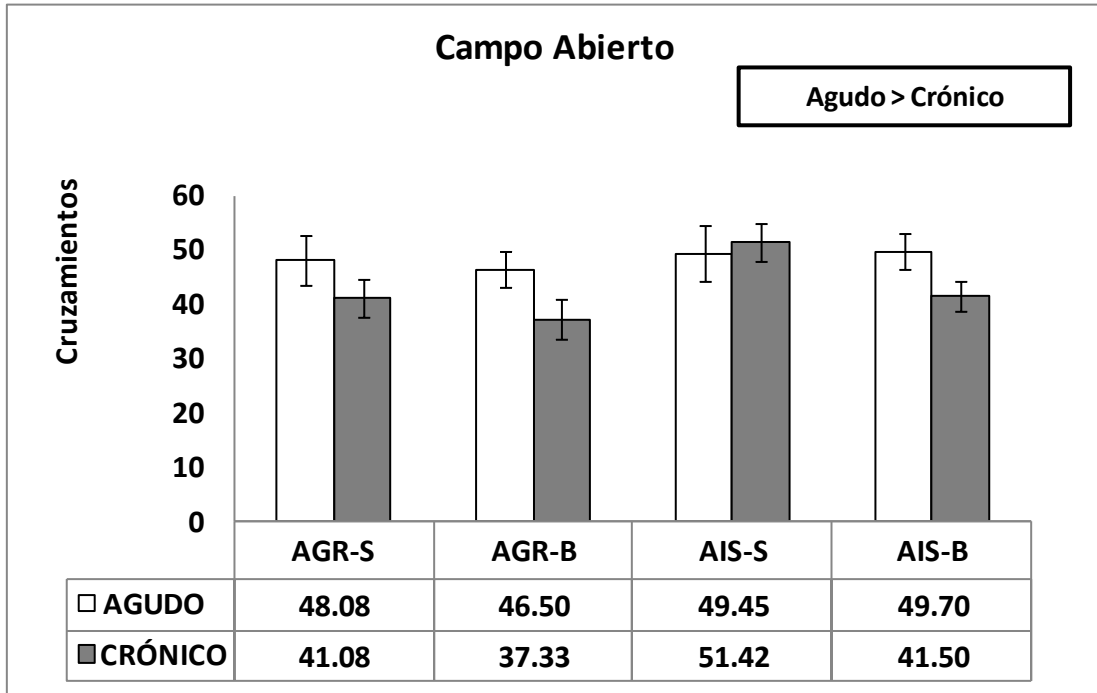


Figura 4. Efecto del aislamiento social sobre el número de cruzamientos en el campo abierto. **AGR**, grupo de animales agrupados en 6 por jaula; **AIS**, grupo de animales aislados socialmente; **A**, alojamiento agudo; **C**, alojamiento crónico; **S**, tratamiento con salina; **B**, tratamiento con Bromocriptina (ANOVA de tres factores seguida por el test t de Bonferroni, $p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Efecto de la administración aguda de Bromocriptina sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% en ratas sometidas al aislamiento social.

De manera general, los animales aislados socialmente por un período crónico consumieron más de la solución de sacarosa al 32% que los animales alojados en grupo durante el primer día de exposición a la prueba de consumo de sacarosa. Estos resultados coinciden con la mayoría de los estudios que han explorado el efecto del aislamiento social sobre el consumo de sacarosa en altas concentraciones (Botelho et al., 2004; Botelho et al., 2008, Botelho et al., 2009; Brenes & Fornaguera, 2008, 2009; Hall et al., 1997; Sammut et al., 2002). Sin embargo, en el presente estudio, este patrón no se mantiene en el segundo día de consumo, contrario a los resultados encontrados en los trabajos de Botelho et al., 2004; Botelho et al., 2008 y Botelho et al., 2009, donde se ha demostrado que los animales sometidos al aislamiento social crónico mantiene (Botelho et al., 2004) o incrementa (Botelho et al., 2008 y Botelho et al., 2009) el consumo aún más en el 2º día de exposición a la prueba de consumo.

En general, la mayoría de los estudios en la literatura que han utilizado el modelo de estrés crónico moderado (CMS) para inducir comportamiento anhedónico en ratas, reportan una disminución en el consumo de solución de sacarosa al 1% (Muscat et al., 1992a; 1992b; Papp et al., 1993). No obstante, en lo referente a los estudios realizados con aislamiento social crónico y consumo de sacarosa en altas concentraciones se ha demostrado que dicha condición produce un incremento en la ingesta de la solución

altamente concentrada. Hall et al. (1997) evaluaron la preferencia por el consumo de sacarosa en ratas criadas en aislamiento y criadas socialmente, ofreciéndoles en orden ascendente diferentes concentraciones (0,7%, 2,1%, 7,0%, 21, 0% y 34%) y agua pura, encontrando que los animales aislados consumieron más de solución de sacarosa al 34%. Dichos resultados fueron obtenidos mediante el protocolo experimental donde los animales fueron expuestos durante 5 minutos a la prueba de consumo con intervalos de receso de 25 minutos donde no tenían acceso ni a las diferentes soluciones de sacarosa ni a agua pura. Adicionalmente, en los estudios realizados por Brenes y Fornaguera (2009), ratas fueron sometidas al aislamiento social por 34 días (mitad tratadas con salina y mitad con dosis diarias de fluoxetina 10 mg/Kg) y expuestas a la prueba de consumo de sacarosa en la cual ofrecía agua pura y solución de sacarosa al 32% durante 48 horas. En este estudio se encontró que los animales aislados presentaron mayor consumo de la solución de sacarosa al 32% que los agrupados, lo cual fue revertido por el tratamiento con fluoxetina vía oral.

Igualmente, en el estudio realizado en 2008 por los mismos autores, se evaluó los efectos del aislamiento social crónico sobre la preferencia por el consumo de una solución de sacarosa al 32% y agua pura, el cual fue medido periódicamente (días post natales 65, 66, 93, 94, 108 y 109). Posterior a la última medida del consumo (día 109) los animales fueron sometidos a la prueba de nado forzado en dos sesiones: 15 minutos en el pre-tst y 24 horas después durante 5 minutos, para evaluar el comportamiento de inmovilidad. De manera general, fue demostrado que los animales aislados socialmente consumieron más de la solución de sacarosa al 32% que los animales sometidos al alojamiento en grupo y que el comportamiento de inmovilidad se correlacionó positivamente con el consumo. Adicionalmente, en este estudio fueron evaluados los niveles de dopamina en regiones bilaterales del estriado dorsal y ventral, encontrando

mayores niveles de dopamina en este último. Según dichos autores este resultado es una evidencia más de que el consumo aumentado de sacarosa al 32% está asociado a un alteración del sistema mesolímbico dopaminérgico, ya que otros autores también han reportado que el incremento en la ingesta está asociado a la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Hajnal, Smith & Norgren, 2004).

Por otro lado, como se ha mencionado anteriormente, en los estudios realizados en nuestro laboratorio por Botelho en 2005 y 2008, los animales fueron expuestos a la prueba de consumo de sacarosa durante 4 días consecutivos después de ser sometidos a aislamiento social crónico, y se encontró que el aumento en el consumo de la solución altamente concentrada (32%) se mantuvo hasta mínimo el segundo día de consumo. De esta manera, los resultados del presente trabajo no se hallan en concordancia con los de los anteriormente mencionados.

Probablemente, la falta de reproducibilidad de los resultados del presente estudio en el segundo día de exposición a la prueba de consumo de sacarosa, podría estar asociada a algunas diferencias metodológicas importantes. Uno de ellas se refiere a la frecuencia con que los animales fueron manipulados durante el período de alojamiento y durante los dos días de experimentación. Al respecto, Fone y Porkess (2008) después de hacer una revisión exhaustiva de trabajos que implican la crianza de ratas sometidas a aislamiento social y los efectos de ésta sobre el desarrollo cerebral y el comportamiento en la etapa adulta, recomiendan que en el contexto investigativo, los procedimientos experimentales deben ser llevados a cabo con la mayor rigurosidad posible, evitando el contacto innecesario del experimentador con el animal, debido a que es evidente que cualquier forma de contacto con sus coespecíficos y excesivo acercamiento e interacción con el experimentador fácilmente puede, a largo plazo, contribuir de manera negativa a todos los cambios que normalmente se generarían a nivel cerebral y

comportamental posiblemente debido a un proceso de adaptación del animal a la situación experimental.

Otra podría referirse a que los animales alojados en grupo no fueron evaluados el mismo día que aquellos alojados individualmente. Dichas especulaciones podrían fundamentarse en el hecho de que, efectivamente, los animales sometidos al aislamiento social crónico presentaron un mayor consumo de sacarosa al 32% que aquellos sometidos al aislamiento agudo. O sea, definitivamente el aislamiento crónico aumentó el consumo de sacarosa al 32%. Adicionalmente, este patrón de consumo aumentado de los aislados no se reprodujo cuando los animales fueron sometidos al alojamiento agudo, ya que los animales agrupados consumieron más de la solución de sacarosa al 32% que los aislados.

Finalmente, otra diferencia metodológica importante está relacionada con el hecho de que todos los animales evaluados fueron sometidos al estrés de la inyección aguda (de Salina o Bromocriptina) 3 horas antes de la medida del consumo, contrario a todos los trabajos realizados por Botelho et al. 2004; Botelho et al., 2008 y Botelho et al., 2009, lo que podría haber intervenido en el patrón de consumo de los animales en el segundo día.

Otro resultado importante derivado del presente estudio se refiere a que el consumo de sacarosa no varió en función del tratamiento con Bromocriptina o Salina. Dichos resultados difieren de los encontrados por Muscat et al. (1992a) quienes evaluaron la baja sensibilidad a la recompensa, en este caso, la disminución del consumo de sacarosa al 1% de ratas expuestas por un período de 7 semanas al modelo de estrés crónico moderado. A partir de la tercera, se evaluó el consumo de un grupo de animales tratado dos veces por semana con Bromocriptina en la dosis de 2,5 mg/Kg y 1,25 mg/kg y a

otro con Quimpirol en la dosis de 200 mg/kg durante 7 semanas y sus respectivos controles tratados con vehículo. De manera general, se observó que los animales solo mostraron efectos relacionados con la ingesta de la solución de sacarosa, o sea, un aumento en el consumo de sacarosa al 1%, después de la quinta semana de administración del fármaco. Por otro lado, los animales que recibieron dosis más bajas de Bromocriptina (1,23 mg/kg) no presentaron aumento en la ingesta de sacarosa. Sin embargo, dosis más altas de Bromocriptina (2,5 mg / kg) y el Quimpirol (200 mg/kg), a pesar de no tener ningún efecto después de dos inyecciones en la semana 4, aumentaron la ingesta después de dos inyecciones más en la semana 5. El grupo tratado con Bromocriptina (2,5 mg/kg) recayó en la semana 6, pero dos nuevas inyecciones en la semana 7 generó un aumento del consumo de sacarosa, por 2 semanas, respecto a los animales estresados tratados con vehículo. De la misma forma, Papp et al. en 1993, solo encontraron efectos agonistas del Quimpirol después de la séptima semana de tratamiento, administrando un total de cuatro inyecciones.

Por otro lado, en un estudio realizado por Kan, Kau, Low-Tonc Ho y Wang (2003), con el objetivo evaluar los efectos inhibitorios de la Bromocriptina sobre los niveles de corticosterona plasmática, reveló efectos farmacológicos con una dosis de 5 mg/kg administrados dos veces por día durante dos días. Nuevamente, este resultado sugiere que solo se presentan efectos del fármaco, en un periodo de tiempo corto si este es administrado de forma frecuente y en dosis altas.

En conjunto, todos los anteriores resultados sugieren por un lado que la dosis utilizada en el presente estudio fue insuficiente para revertir el perfil anhedónico de los animales. Adicionalmente, sugieren la necesidad de un tratamiento crónico o subcrónico con la Bromocriptina, quizás en dosis más elevadas de las utilizadas en el presente estudio (2,5 mg/Kg). Finalmente, es indicador de que el efecto de éstos fármacos solo se

puede observar después de quinta semana de tratamiento, cuando las dosis suministradas son relativamente bajas y la administración poco frecuente. En conclusión, se podría sugerir que la inexistencia de efectos de la Bromocriptina sobre el patrón de consumo de sacarosa encontrado en el presente estudio se debe a la administración aguda y a la baja dosis administrada del fármaco.

Por otro lado, otro factor que pudo haber contribuido se refiere a una posible baja absorción del fármaco, ya que durante la extracción de las glándulas adrenales se observaron, únicamente en los animales tratados con Bromocriptina, rastros de cristalización del medicamento por acumulación del mismo en la parte interior de la piel sobre el lomo de los animales. Esta suposición se podría apoyar en la ausencia de efecto de la Bromocriptina sobre la actividad locomotora de los animales.

Efecto del aislamiento social sobre el peso de las glándulas adrenales de las ratas como indicador fisiológico de la respuesta de estrés.

En el presente estudio, independientemente de la duración del alojamiento y del tipo de tratamiento farmacológico a que fueron expuestos los animales, aquellos sometidos al aislamiento social presentaron adrenales más pesadas que los que fueron alojados en grupo.

El peso de las glándulas adrenales como indicador fisiológico en la respuesta de estrés se basa en la premisa de que la exposición a un factor estresante genera alteración en el organismo, la cual se caracteriza por la abundante liberación de corticosterona, con el fin de contribuir a la movilización de los sustratos energéticos y promover la

homeostasis orgánica (Gonzalez & Escobar, 2002, 2006; Pauli et al., 2006), generando de esta manera un incremento en el tamaño de las glándulas adrenales (Rygula et al., 2005).

Los resultados del presente estudio concuerdan con la mayoría de los estudios que han demostrado que el aislamiento social produce aumento del peso de las glándulas adrenales (Baldwin et al., 1995; Biagini et al., 1998; Hatch et al., 1963; McCormick et al., 1998; Nuñez et al., 1999). Hatch et al., ya en 1963, mostraron que el aislamiento social produjo aumento de las glándulas adrenales, disminución del bazo y del timo, indicando una hiperfunción de la corteza adrenal. En el mismo sentido, Baldwin et al. (1995) demostraron que animales alojados individualmente presentaran niveles más altos de corticosterona y glucosa sanguínea, aumento del peso de las glándulas adrenales y disminución de los pesos del timo y bazo. Adicionalmente, los animales alojados individualmente y expuestos a la prueba de nado forzado exhibieron niveles más altos de corticosterona, demostrando una fuerte interacción entre la condición de aislamiento social y el estrés agudo. Según estos autores, los animales alojados individualmente suelen ser más reactivos al estrés agudo. Finalmente, McCormick et al. (1998), demostraron que el aislamiento social potencializa la respuesta del eje hipotálamo-pituitaria - adrenocortical al estrés.

A favor de lo anterior, en una revisión realizada por Sheline (2000) sobre los cambios cerebrales asociados con el inicio temprano de la depresión y la descripción de los mecanismos etiológicos asociados, se hace referencia al importante papel del estrés y, en particular, del eje hipotálamo – pituitaria - adrenal, en la depresión. Desde la fisiología neuroendocrina, la respuesta a estresores físicos o emocionales altera la homeostasis y las respuestas corporales, haciendo con que el organismo funcione para regresar al sistema a su condición normal. En condiciones normales, el eje HPA lleva a

cabo una respuesta apropiada al estrés agudo, generando una cascada endocrina que parte desde el cerebro, continuando en la pituitaria, y finalizando con la secreción de glucocorticoides por la glándula suprarrenal; sin embargo, en condiciones de estrés crónico, como ocurre en la depresión, las alteraciones que se producen en el sistema de los mecanismos de retroalimentación no funcionan con normalidad y se produce daño en las células neuronales. Según Tsigos y Chrousos (2002), cuando el organismo se enfrenta a estrés excesivo, responde adaptativamente tanto física como emocionalmente, desarrollando lo que es llamado por Selye “Síndrome de adaptación general”; dicha respuesta adaptativa tiene cierta especificidad al estresor que genera la alteración, la cual, sin embargo, progresivamente pierde su severidad (Adzic et al., 2009).

Igualmente, estudios más recientes han demostrado que la exposición aguda o crónica a situaciones estresantes puede producir aumento en el peso de las glándulas adrenales como resultado de la activación del sistema HPA (Grippe et al, 2005; Henkel et al., 2002; Sánchez, 2002). Weiss et al. en 2004, investigaron el efecto del aislamiento social sobre la reactividad comportamental y neuroendocrina al estrés en ratas hembras y machos tanto en el modelo de campo abierto como en el LCE. La actividad locomotora en el campo abierto no fue modificada por el aislamiento social crónico, sin embargo las ratas macho presentaron un perfil ansiogénico en el laberinto en cruz elevado, acompañado por una hiperfunción del eje HPA. Según estos autores, el aislamiento social crónico aumenta la reactividad emocional al estrés y produce hiperfunción del eje HPA.

De la misma forma, Grippe et al. (2005), utilizando ratas machos Sprague Dawley que fueron expuestas por 4 semanas a estresores impredecibles bajo condiciones de continua iluminación durante la noche, inclinación de la jaula, alojamiento por parejas con cama húmeda y privación de agua por 12 horas, demostraron que los animales

expuestos al protocolo de estrés crónico presentaron mayores niveles de corticosterona plasmática que los animales controles no sometidos al paradigma de estresores crónicos impredecibles.

Efecto del aislamiento social sobre los niveles de glicemia de las ratas.

De manera general, los niveles de glicemia de los animales, independiente del tipo de alojamiento, fueron mayores cuando sometidos al alojamiento agudo que al alojamiento crónico. Adicionalmente, aquellos que fueron tratados con Bromocriptina presentaron mayores niveles de glicemia que aquellos tratados con salina.

Considerando que los animales pasaron por un período de habituación de 6 días en el laboratorio experimental alojados en grupo de seis animales por jaula; que al 7º día se efectuó la distribución de los mismos en los diferentes grupos según el tipo de alojamiento (en grupo o aislados), y que, por consiguiente, cambiaron muy rápidamente a un ambiente nuevo (nueva jaula de agrupamiento o de aislamiento), los altos niveles de glicemia presentados por los animales sometidos al alojamiento agudo se podrían explicar debido a la grande movilización de energía que requiere la exposición al ambiente nuevo y a la manipulación del experimentador, los cuales pudieron haber desempeñado como un estresor agudo (Fone & Parkess, 2008; Mathews, Holde & Van, 1998). Esta respuesta logra disminuir con el alojamiento crónico (Tsigos & Chrousos, 2002; Adzic et al., 2009). A favor de lo anterior, la mayoría de los estudios ha demostrado que el estrés agudo aumenta los niveles de glicemia tanto en ratas adultas

(Nonogaki & Iguchi, 1997; Nonogaki, 2000) como en ratas jóvenes (Romeo, Karatsoreos, Ali & McEwen, 2007).

De la misma forma, los niveles de glicemia más elevados se encontraron en los animales que fueron sometidos a la administración de Bromocriptina. Considerando que se encontraron en el dorso de los animales rastros de cristalización del fármaco, como lo mencionado en apartados anteriores, es posible que la administración del mismo haya producido dolor intenso y, por ende, una respuesta de estrés agudo caracterizada por el incremento en los niveles de glicemia. Sin embargo, son especulaciones que ameritan ser mejor estudiadas. Por otro lado, se ha demostrado que la administración de Bromocriptina vía intraperitoneal en ratas altera las concentraciones de glucosa extracelular lo que podría explicar también el aumento de los niveles de glucosa en la sangre (Uehara, Sumiyoshi, Itoh & Kurachi, 2007).

Efecto del tratamiento de la administración de la Bromocriptina en ratas sometidas al aislamiento social crónico sobre la actividad locomotora de los animales en el campo abierto.

De manera general, el número de cruzamientos en el campo abierto no varió en función del tipo de alojamiento (aislamiento social o en grupo), ni con respecto al tipo de tratamiento farmacológico (salina Vs Bromocriptina). No obstante, los animales que fueron sometidos al alojamiento agudo presentaron una mayor actividad locomotora que los animales sometidos al alojamiento crónico. Este resultado, en concordancia con los encontrados en el presente estudio con respecto a los niveles de glicemia, refuerza la

premisa de que la exposición aguda a un ambiente nuevo pudo generar un incremento de la actividad locomotora como un indicador de reactividad emocional frente al estímulo estresor (Hall et al., 1997). A favor de lo anterior, Grønli, Murison, Fiske, Bjorvatn, Sorensen et al. (2005) sometieron ratas Sprague-Dawley de ambos sexos al modelo de estrés crónico moderado y evaluaron el comportamiento sexual y locomotor en el campo abierto de los animales junto con medidas hedónicas (consumo de sacarosa al 1% y sacarina al 0,1%). De manera general, dichos autores encontraron que los animales sometidos al CMS presentaron disminución de la actividad sexual e incremento en la actividad locomotora en el campo abierto, asociado a una disminución en el consumo de sacarosa 1%, sin afectar el consumo de sacarina. Según dichos autores el CMS induce alteraciones comparables a algunos síntomas de tipo-depresivos en humanos.

Otro dato importante del presente estudio consiste en que la Bromocriptina no alteró la actividad locomotora de los animales. Con relación a este resultado y considerando los obtenidos en el consumo de sacarosa, probablemente la dosis utilizada en el presente estudio fue insuficiente o los animales deberían haber sido sometidos a un tratamiento crónico o subcrónico, ya que los efectos de este fármaco solo se pueden observar después de quinta semana de tratamiento, cuando las dosis suministradas son relativamente bajas y la administración poco frecuente como fue el caso del presente estudio (Muscat et al., 1992a; Papp et al., 1993; Kan et al., 2003).

Por otro lado se podría sugerir que, aunque algunos autores hayan demostrado que muchos de los parámetros del campo abierto son insensibles a las diferencias de peso de los animales (Barrow & Leconte, 1996), el peso o la edad como tal pudo haber sido una variable determinante sobre el comportamiento locomotor de los animales, ya que aquellos sometidos al alojamiento agudo (más jóvenes y menos pesados) presentaron

mayor actividad locomotora que los animales sometidos al alojamiento crónico (más viejos y más pesados). A favor de lo anterior, un estudio realizado por Boguszewski, Jolanta & Zagrodzka (2002) para evaluar los cambios emocionales asociados a la edad demostró que las medidas de actividad locomotora en el campo abierto disminuyeron significativamente con la edad, o sea, los animales jóvenes presentaron mayor actividad locomotora que los animales adultos.

CONCLUSIONES

De manera general, las ratas sometidas al aislamiento social crónico (21 días) manifestaron un comportamiento de tipo anhedónico caracterizado por un aumento en el consumo de la solución de sacarosa al 32%. Sin embargo, dicho consumo no se mantuvo en el segundo día de evaluación. Adicionalmente, los animales aislados socialmente exhibieron adrenales más pesadas que los agrupados, evidenciándose una mayor respuesta fisiológica de estos animales al estrés crónico.

A pesar de lo anterior, no se pudo confirmar la hipótesis de que el consumo aumentado de la solución de sacarosa al 32% está asociado a una baja sensibilidad a la recompensa, como consecuencia a una disfunción del sistema dopaminérgico, ya que el tratamiento agudo con la Bromocriptina no disminuyó el consumo de sacarosa al 32%.

Por otro lado, el aislamiento social agudo produjo mayores niveles de glucosa en la sangre, evidenciando alertamiento fisiológico al estrés agudo, de la misma forma que los animales sometidos a tratamiento agudo con Bromocriptina presentaron indicadores de glicemia más elevados que los tratados con salina.

Finalmente, independiente del tipo (aislados o agrupados), los animales sometidos al alojamiento agudo presentaron mayor actividad locomotora en el campo abierto, lo que podría ser interpretado como un indicador de reactividad emocional al estrés agudo; no obstante no se evidenció alteración locomotora por el tratamiento con Bromocriptina, sugiriendo que el medicamento no ejerció un efecto en el animal, probablemente por dosis insuficiente o tratamiento muy cortos (agudo) para la dosis administrada.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados arrojados en el presente estudio, se recomienda la elaboración de otras investigaciones en las que la administración de Bromocriptina se realice por medio de un tratamiento crónico o subcrónico, o en dosis mayores en caso de un tratamiento agudo. Así mismo, con el objetivo de evaluar la participación del sistema dopaminérgico en el consumo aumentado de solución de sacarosa al 32% como indicador de baja sensibilidad a la recompensa, se recomienda utilizar un fármaco antagonista. Finalmente, se sugiere evaluar la participación de otros sistemas neurotransmisores involucrados en el trastorno depresivo, como el serotoninérgico, propuesta ya elaborada en nuestro laboratorio.

REFERENCIAS

- Adzic, M., Djordjevic, J., Djordjevic, A., Niciforovic, A., Demonacos, C., Radojcic, M., et al. (2009). Acute or chronic stress induce cell compartment-specific phosphorylation of glucocorticoid receptor and alter its transcriptional activity in Wistar rat brain. *Journal of Endocrinology*, 202, 87-97.
- American Psychiatric Association (APA), (2002). Manual Diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, *DSM – IV-TR*. Barcelona: Masson.
- Anisman, H & Matheson, K. (2005). Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 525-546.
- Avena, M. N., Rada, P. & Hoebel, G. B. (2008). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32, 20–39.
- Bahena-Trujillo, R., Flores, G. & Arias-Montaña, J. A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Revista Biomedica*, 11, 39-60.
- Baker, L., Barcai, A., Kaye, R. & Haque, N. (1969). Beta adrenergic blockade and juvenile diabetes: Acute studies and long-term therapeutic trial: Evidence for the role of catecholamines in mediating diabetic decompensation following emotional arousal. *The Journal of Pediatrics*, 75,(1) 12-29.
- Barrow, P. & Leconte, I. (1996). The influence of body weight on open field and swimming maze performance during the post-weaning period in the rat. *Laboratory Animals*, 30,22-27.

- Basso, A., Gallagher, K., Bratcher, N., Brioni, J., Moreland, R., Hsieh, G., et al. (2005). Antidepressant-like effect of D2/3 receptor-, but not D4 receptor-activation in the rat forced swim test. *Neuropsychopharmacology*, 30, 1257-1268.
- Becerra, D. (2003). Efecto de la privación social en la agresión y la ansiedad de ratas machos wistar. *Acta Colombiana de Psicología*, 9, 39-49.
- Benton, D., Ruffin, M., Lassel, T., Nabb, S., Messaoudi, M., Vinoy, S., et al. (2003). The delivery rate of dietary carbohydrates affects cognitive performance in both rats and humans. *Psychopharmacology*, 166,(1) 86-90.
- Bhugra, D. & Mastrogianni, A. (2004). Globalisation and mental disorders. Overview with relation to depression. *British Journal of Psychiatry*, 184,10-20.
- Biagini, G. Pich, E. M., Carini, C., Marrama, P. & Agnati, L. F. (1998). Postnatal maternal separation during the stress hyporesponsive period enhances the adrenocortical response to novelty in adult rats by affecting feedback regulation in the CA1 hippocampal field. *International Journal Developmental Neuroscience*, 16, (3-4)187-197.
- Boguszewzki, P. & Zagrodzka, J. (2002). Emotional changes related to age in rats - a behavioral analysis. *Behavioral Brain Research*, 133,323-332.
- Botelho, S. & Conde, C. (2001). Modelos Animales para el estudio de Ansiedad y Depresión. *Revista de Salud UIS*, 33, 260-271.
- Botelho, S., Cortéz, M. L. & Conde, C. (2005). Evaluación de los Efectos del Alojamiento Individual sobre las manifestaciones comportamentales de tipo depresivo en ratas. Tesis de Grado Obtenido no Publicada. Universidad Pontificia Bolivariana, Bucaramanga, Colombia.

Botelho, S., Martínez, J. C. & Conde, C. (2008.) Evaluación de las Manifestaciones Comportamentales de Tipo “Depresión - Ansiedad” en Ratas Sometidas a Aislamiento Social Crónico. Tesis de Grado Obtenido no Publicada. Universidad Pontificia Bolivariana, Bucaramanga, Colombia.

Botelho, S., Santos, P., Rodríguez, J. & Conde, C. (2009). Evaluación de Manifestaciones Comportamentales de tipo Anhedónico y Desesperanza Aprendida en Ratas Sometidas a Aislamiento Social Crónico. Tesis de Grado Obtenido no Publicada. Universidad Pontificia Bolivariana, Bucaramanga, Colombia.

Bremner, J., Vythilingam, M., Vermetten, E., Anderson, G., Newcomer, J. & Charney, D. (2004). Effects of glucocorticoids on declarative memory function in major depression. *Biology Psychiatry*, 55, 811-815.

Brenes, J. C. & Fornaguera, F. (2009). The effect of chronic fluoxetine on social isolation-induced changes on sucrose consumption, immobility behavior, and on serotonin and dopamine function in hippocampus and ventral striatum. *Behavioural Brain Research*, 198,(1, 2)199-205.

Brenes, J. C., Rodríguez, O. & Fornaguera, J. (2008). Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 89, 85-93.

Brenes, J. C. & Fornaguera, J. (2009). The effect of chronic fluoxetine on social isolation - induced changes on sucrose consumption, immobility behavior , and on serotonin and dopamine function in hippocampus and ventral striatum. *Behavioral Brain Research*, 198, 199 - 205.

- Cárdenas-Villalvazo, A., López-Espinoza, A., Martínez, A.G., Franco, K., Díaz, F., Aguilera, V., et al. (2010). Consumo de alimento, crecimiento y ansiedad, tras estrés por hacinamiento o aislamiento de ratas. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 36,(28) 129-142.
- Carlson, N. R. (2006). Psicofarmacología. En Carlson, N. R. (8ª Eds.). *Fisiología de la conducta* (pp. 107-141). Madrid, España: Pearson Addison Wesley.
- Choleris, E., Thomasb, A. W., Kavaliersa, M & Prato, F. S. (2001). A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25, 235-260.
- Conde, C., Costa, V. & Tomaz, C. (2000). PROSTCOM. Un conjunto de programas para registro y procesamiento de datos comportamentales en investigaciones de fisiología y farmacología. *Biotemas*, 13,(1) 145-159.
- Corominas, M., Roncero, C., Bruguera, E. & Casa, M. (2007). Sistema dopaminérgico y adicciones. *Revista de Neurología*, 44,(1) 23-31.
- D'aquila, P. S., Brain, P. & Willner, P. (1994). Effects of chronic mild stress on performance in behavioral test relevant to anxiety and depression. *Physiology & Behavior*, 5,(56) 861-867.
- Escudero, J. (2006). Depresión mayor: reflexiones históricas y marco teórico de su relación con enfermedades cardiovasculares. Barquisimeto, Venezuela: Universidad Centro-Occidental "Lisandro Alvarado". Recuperado el 11 Junio de 2010, de http://www.psiquiatria.com/imgdb/archivo_doc7163.pdf

- Fabricius, K., Helboeb, L., Steiniger-Brachc, B., Fink-Jensend, A. & Pakkenberge, B. (2010). Stereological brain volume changes in post-weaned socially isolated rats. *Brain Research*, 1345, 233-239.
- Flores, C. Q. (2002). Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos. *Rev.ictiol*, 10,(1/2)57-78.
- Fone, K. C. F., Shalders, K., Fox, Z. D., Arthur, R. & Marsden, C. A. (1996). Increased 5-HT_{2c} receptor responsiveness occurs on rearing rats in social isolation. *Psychopharmacology*, 123,(4) 346-352.
- Fone, K.C. & Porkess, M. V. (2008). Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—Relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32, 1087–1102.
- Gilbert, P., Allan, S., Brough, S., Melley, S. & Miles, J. N. V. (2002). Relationship of Anhedonia and Anxiety to Social Rank, Defeat and Entrapment. *Journal of Affective Disorders*, 71, 141-151.
- González, G. B. & Escobar, A. (2002). Neuroanatomía del estrés. *Revista Mexicana de Neurociencias*, 3,(5) 273-282.
- González, G. B. & Escobar, A. (2006). Estrés y sistema inmune. *Revista Mexicana de Neurociencias*, 7,(1) 30-38.
- Goodale, E. P. (2007). El Papel de la norepinefrina y de la dopamina en la depresión. *Revista de Toxicomanías*, 50.

- Grippe, A. J., Cushing, B. S. & Carter, C. S. (2007). Depression-Like behavior and stressor-induced neuroendocrine activation in female prairie voles exposed to chronic social isolation. *Psychosomatic Medicine*, 69, 149–157.
- Gronli, J., Murison, R., Fiske, E., Bjorvath, B., Sorensen, E., Portas, C. M., et al. (2005). Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. *Physiology & Behavior*, 84,571-577.
- Guadarrama, L., Escobar, A. & Zhang, L. (2006). Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 49,(2) 66-72.
- Haas, D. A. & George, S. R. (1988). Gonadal regulation of corticotropin-releasing factor immunoreactivity in hypothalamus. *Brain Research Bulletin*, 361-367.
- Hajnal, A., Smith, G. & Norgren, R. (2004). Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 286, R31–R37.
- Hall, F. S., Humby, T., Wilkinson, L. S & Robbins, T. W. (1997). The effects of isolation rearing on sucrose consumption in rats. *Physiology & Behavior*, 62,(2) 291–297.
- Hall, F. S., Wilkinson, L. S., Humby, T. & Robbins, T. W. (1999). Maternal deprivation of neonatal rats produces enduring changes in dopamine function. *Synapse*, 32, 37-43.
- Hall, F. S., Wilkinson, L. S., Humby, T., Inglis, W., Kendall, D. A., Marsden, C. A., et al., (1998). Isolation Rearing in rats: Pre- and Postsynaptic Changes in Striatal Dopaminergic Systems. *Psychopharmacology Biochemistry and Behaviour*, 59,(4) 859-872.
- Hatch, A., Wiber, G. S., Balazs, T. & Grice, S. K. (1963). Long-Term isolation stress in rats. *Science*, 142, 507-508.

- Heffner, T. G., Zigmond, M. G. & Stricker, E. M. (1977). Effects of dopaminergic agonists and antagonists of feeding in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutic*, 201, 386-399.
- Hernández, G. (2000). Manual de Psicopatología. Afecto. 1° ed. Bogotá: Centro Editorial Javeriana CEJA: 90-105.
- Hernandez, L. & Hoebel, B. (1988). Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens. *Physiology Behaviour*, 44, 599-606.
- Hernandez, L., Guzman, N. & Hoebel, B. (1991). Bidirectional microdialysis in vivo shows differential dopaminergic potency of cocaine, procaine and lidocaine in the nucleus accumbens using capillary electrophoresis for calibration of drug outward diffusion. *Psychopharmacology*, 105,(2) 264-268.
- Hontela, A., Rasmussen, J. B., Audet, C. & Chevalier, G. (1992). Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22,(3) 278-283.
- Hu, H., Su, L., Xu, Y. Q., Zhang, H. & Wang, L. W. (2010). Behavioral and [f-18] fluorodeoxyglucose micro positron emission tomography imaging study in a rat chronic mild stress model of depression. *Neuroscience*, 169,171-181.
- Juárez, J. (2007a). Estrategias farmacológicas y conductuales en el estudio del hedonismo. En Velázquez & Anaya (Eds), *Neurología del Hedonismo*. (2ª ed.). México: Manual Moderno. pp. 2134.
- Juárez, J. (2007b). Dopamina y Conducta operante. En Aparicio, N.C.F. (Eds), *Neurología del Hedonismo*. (2ª ed.). México: Manual Moderno. pp. 111.

- Kan, Shu-Fen., Kau, Mci-Mci., Low-Tonc Ho. L. & Wang, S. P. (2003). Inhibitory effects of bromocriptine on corticosterone secretion in male rats. *European Journal of Pharmacology*, 468, 141-149.
- Kanarik, M., Kõiv, K., Matrov, D. & Harro, J. (2009). Response to chronic social stress in the rat depends on persistent differences in sucrose consumption. *European Neuropsychopharmacology*, 19, 189-140.
- Knuth, E. D. & Etgen, A. M. (2007). Long-term Behavioral Consequences of Brief, Repeated Neonatal. *Brain Research*, 1128,(1) 139–147.
- Lazarus, R. S. (1993). From psychological stress to the emotions: a history of changing outlooks. *Review Psychology*, 44, 1-22.
- Leng, A., Feldon, J. & Ferger, B. (2004). Long-Term Social Isolation and Medial Prefrontal Cortex: Dopaminergic and Cholinergic Neurotransmission. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 77, 371-379.
- Lilley, L. L. & Aucker, R. S. (2000). Antiparkinsonianos. En Lilley, L. L. & Aucker, R. S. *Farmacología en Enfermería*. 2a.ed. Madrid, España. Ediciones Harcourt S. A.
- Maccormick, C. M., Kehoe, P. & Kovacs, S. (1998). Corticosterone released in response to repeated episodes of neonatal isolation: evidence of sensitization. *International Journal Developmental Neuroscience*, 16, (3-4) 175-185.
- Masi, F., Scheggi, S., Mangiavacchi, S., Tolu, P., Tagliamonte, A., De Montis, M. G., et al. (2001). Dopamine output in the nucleus accumbens shell is related to the acquisition and the retention of a motivated appetitive behavior in rats. *Brain Research*, 903,(1-2) 102-109.

- Mathews, C. K., Holde, K. E. & Van. (1998). Metabolismo de los compuestos. En Mathews, C. K., Holde, K. E. & Van. *Bioquímica*. 2a.ed. Madrid, España. Editorial McGraw-Hill.
- Matthews, K. & Robbins, T. K. (2003). Early experience as a determinant of adult behavioral responses to reward: The effects of repeated maternal separation in the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 27, 45–55.
- Matthews, K., Christmas, D., Swan, J. & Sorrell, E. (2005). Animal models of depression: navigating through the clinical fog. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 503-513.
- Ministerio de Protección Social, República de Colombia. (2003). Un panorama nacional de la salud y enfermedad mental de la salud en Colombia: Informe preliminar: Estudio Nacional de Salud Mental en Colombia. Recuperado el 9 de noviembre de 2009, de http://www.abacolombia.org.co/bv/clinica/estudio_salud_mental_colombia.pdf
- Molina, J. T., Gutiérrez, G. A., Hernández, D. L. & Contreras, M. C. (2008). Estrés Psicosocial: Algunos aspectos Clínicos y Experimentales. *Anales de Psicología*, Publicaciones de la Universidad de Murcia. 24,(2) 353- 360.
- Möller, Hans-Jurgén. (2005). Los efectos antipsicóticos y antidepresivos de los antipsicóticos de segunda generación ¿dos mecanismos farmacológicos diferentes?. *Revista de Toxicomanias*, 44, 3-12.
- Montes, C. (2004). La Depresión y su Etiología: Una patología completa. Vitae: *Academia Biomédica Digital*, Invenia, ISSN 1317-987X, N°. 18, 2004.
- Moscoso, M. S. (1998). Estrés, salud y emociones: estudio de la ansiedad, cólera y hostilidad. *Revista de Psicología*, III, 3, 8 – 47.

- Muscat, R., Papp, M. & Willner, P. (1992a). Antidepressant-like effects of dopamine agonists in an animal model of depression. *Biology Psychiatry*, 31,937-946.
- Muscat, R., Papp, M. & Willner, P. (1992b). Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and maprotiline. *Psychopharmacology*, 109, 433-438.
- Nakane, Y., Jorm, A. F., Yoshioka, K., Christensen, H., Nakane, H. & Griffiths. K. M. (2005). Public beliefs about causes and risk factors for mental disorders: a comparison of Japan and Australia. *BMC Psychiatry*, 5,(33) 1-9.
- National Institute of Mental Health. (2004). What is Depression?. National Institute of Mental Health On Line. Recuperado 15 de Junio de 2010. Disponible en: URL:<http://www.nimh.nih.gov/health/publications/depression/complete-index.shtml>
- Nestler, J. E., Hyman, E. S. & Malenka, C. R. (2001). Mood and Emotion. En Nestler, J. E., Hyman, E. S. & Malenka, C. R. *Molecular Neuropharmacology a Foundation for Clinical Neuroscience*. (pp.327-354). United States. McGraw-Hill.
- Nonogaki, K. & Iguchi. A. (1997). Stress, acute hyperglycemia, and hyperlipidemia: Role of autonomic nervous system and cytokines. *Trends Endocrinol Metab*, 8,192-197.
- Nonogaki, K. (2000). New insights into sympathetic regulation of glucose and fat metabolism. *Diabetologia*, 43, 533-549
- Norgren, R., Hajnal, A. & Mungarndee, S. S. (2006). Gustatory reward and the nucleus accumbens. *Physiology & Behavior*, 89, 531-535.

- Nuñez, M. J., Riveiro, P., Becerra, M. A., De Miguel, S., Quintans, M. R., Nuñez, L. A., et al. (1999). Effects of alprazolam on the free-choice ethanol consumption induced by isolation stress in aged rats. *Life Sciences*, 64, (20) 213-217.
- Papp, M., Willner, P. & Muscat, R. (1993). Behavioural sensitization to a dopamine agonist is associated with reversal of stress-induced anhedonia. *Psychopharmacology*, 110, 159-164.
- Pauli, J. R., Gomes, R. J. & Luciano, E. (2006). Eje hipotálamo - Pituitario: Efectos del entrenamiento físico en ratas Wistar con administración de dexametasona. *Revista de Neurologia*, 42, (6)325-33.
- Peng, X., Lang, C. M., Drozdowicz, C. K. & Ohlsson-Wilhelm, B. M. (1989). Effect of cage population on plasma corticosterone and perihelal lymphocyte populations of laboratory mice. *Laboratoy animals*, 23, 302-306.
- Phillips, A. G., Blaha, C. D. & Fibiger, H. C. (1989). Neurochemical correlates of brain-stimulation reward measured by ex vivo and in vivo analyses. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 13, 99-104.
- Pinel, J. (2007). Modelos biopsicológicos de la conducta animal. En Pearson Educación, S.A. (6° Ed.). *Biopsicología*. (pp.134-137). Madrid.
- Pizzagalli, D. A., Oakes, T. R., Fox, A. S., Chung, M. K., Larson, C. L., Abercrombie, H.C., et al. (2004). Functional but not structural subgenual prefrontal cortex abnormalities in melancholia. *Molecular Psychiatry*, 9, 393-405.
- Prut, L. & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463, 3-33.

- Romeo, D. R., Karatsoreos, I. N., Ali, F. S. & McEwen, B. S. (2007). The effects of acute stress and pubertal development on metabolic hormones in the rat. *Informa healthcare*, 10,(1) 101-106.
- Rygula, R., Abumaria, N., Domenici, E., Hiemke, C. & Fuchs, E. (2006). Effects of fluoxetine on behavioral deficits evoked by chronic social stress in rats. *Behavioral Brain Research*, 174,(1) 188-192.
- Rygula, R., Abumaria, N., Flügge, G., Fuchs, E., Rütther, E., & Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress. *Behavioral Brain Reserch*, 162, 127–134.
- Sammut, S., Bethus, I., Goodall, G. & Muscat, R. (2002). Antidepressant reversal of interferon- α -induced anhedonia. *Physiology & Behavior*, 75, 765-772.
- Schweizer, M. C., Henniger, M. S. H. & Sillaber, I. (2009). Chronic mild stress (CMS) in mice: of anhedonia, anomalous anxiolysis and activity. *Plos One*, 4,(1)1-11.
- Shawa, D. J. M., Annett, B. & Doherty, J. C. L. (2007). Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. *Phytomedicine*, 14, 613-620.
- Sheline, Y. I. (2000). 3D MRI Studies of Neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. *Society of Biological Psychiatry*, 48, 791-800.
- Silveira, G. F. (1999). Medicamentos antidepressivos e estabilizadores do humor. En Guilherme, G. F. & Silveira, G. F. *Fundamentos de psicofarmacologia*. (pp. 93-122). São Paulo. Brasil. Atheneu.

- Stout, S. C., Mortas, P., Owens, M. J., Nemeroff, C. B. & Moreau, Jean-Luc. (2000). Increased corticotropin-releasing factor concentration in the bed nucleus of the stria terminalis of anhedonic rats. *European Journal of Pharmacology*, 401, 39-46.
- Strome, E. M., Wheler, G. H. T., Higley, J. D., Loriaux, D. L., Suomi, S. J. & Doudet, D. J. (2002). Intracerebroventricular corticotropin-releasing factor increases limbic glucose metabolism and has social context-dependent behavioral effects in nonhuman primates. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, 99, 15749-15754.
- Surwit, R. (2002). Diabetes tipo 2 y estrés. *Diabetes Voice*, 47,(4) 38-40.
- Suwansantisuk, W. (2006). White noise. En <http://www-math.mit.edu/~tkemp/18.177/White.Noise.pdf>. Tomado el 30 de Junio de 2010.
- Tamayo, J. M. (1999). Bases moleculares de la psicofarmacología. En *Psicofarmacología On-Line*. Recuperado el 3 de Agosto de 2010. Disponible en: URL: <http://psicofarmacologia.info/basesmoleculares.html>.
- Tsigosac, C. & Chrousosbc, G. P. (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal Psychosomatic Research*, 53, 865-871.
- Uehara, T., Sumiyoshi, T., Itoh, H. & Kurachi, M. (2007). Dopamine D1 and D2 receptors regulate extracellular lactate and glucose concentrations in the nucleus accumbens. *Brain Research*, 1133, 193-199.
- Vandenbergh, R., Sussman, K. & Vaughan, G. (1967). Effects of combined physical-anticipatory stress on carbohydrate-lipid metabolism in patients with diabetes mellitus. *Psychosomatics*, 8,16.

- Vautier, S., Lacomblez, L., Chacun, H., Picard, V., Gimenez, F., Farinotti, R., et al. (2006). Interactions between the dopamine agonist, bromocriptine and the efflux protein, P-glycoprotein at the blood–brain barrier in the Mouse. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27, 167–174.
- Wall, R. J. & Shani, M. (2008). Are animal models as good as we think?. *Theriogenology*, 69, 2-9.
- Wallace, D. L., Han, M. H., Graham, D. L., Green, T. A., Vialou, V., Iñiguez, S. D., et al. (2009). CREB regulation of nucleus accumbens excitability mediates social isolation–induced behavioral deficits. *Nature Neuroscience*, 12,(2) 200-209.
- Wang, G. J., Volkow, N. D., Telang, F., Jayne, M., Ma, J., Rao, M., et al. (2004). Exposure to appetitive food stimuli markedly activates the human brain. *NeuroImage*, 21,(4) 1790-1797.
- Willner, P. (1990). Animal models of depression: An review. *Pharmacology and Therapeutics*, 45, 425-455.
- Willner, P. (1995a). Animal models of depression: Validity and applications. En Gessa, G., Fratta, W., Pani, L., Serra, G. (eds). *Depression and mania: From Neurobiology to treatment*. Raven press. (pp. 19-41). New York.
- Willner, P. (1995b). Pharmacology of anhedonia. *European Neuropsychopharmacology*, 5,214.
- Willner, P. (1996). Anhedonia in depression: state or trait. *European Psychiatry*, 11,247s.

Willner, P. (2005). Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and behavioural neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52,(2): 90-110.

Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S. & Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 93, 358-364.

World Health Organization (OMS). Depression. (2004). Depresión, Disponible en: http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/. Recuperado el 24 de Mayo del 2010.