

**Evaluación de las manifestaciones comportamentales de tipo “depresión-ansiedad” en ratas
sometidas al aislamiento social crónico.**

Asesor: Ps., PhD. Silvia Botelho de Oliveira

Co-investigador: MD, PhD. Carlos Conde

Estudiante de Psicología: Juan Carlos Martínez Gamboa



UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES

FACULTAD DE PSICOLOGIA

FLORIDABLANCA

2008

**Evaluación de las manifestaciones comportamentales de tipo “depresión-ansiedad” en ratas
sometidas al aislamiento social crónico.**

Asesor: Ps., PhD. Silvia Botelho de Oliveira

Co-investigador: MD, PhD. Carlos Conde

Estudiante de Psicología: Juan Carlos Martínez Gamboa

Proyecto de grado para optar el título de psicólogo



UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES

FACULTAD DE PSICOLOGIA

FLORIDABLANCA

2008

Nota De Aceptación

Presidente Del Jurado

Floridablanca, _____

Agradecimientos

Teniendo la premisa de no esperar nada de Díos, ofrezco gracias y agradecimientos por darme lo que me ha dado hasta este momento, pues ha permitido que mi vida sea valiosa en la medida en que me ha dado la oportunidad de llegar a un desenvolvimiento de mi pasión, y por que este desenvolvimiento ha permitido y permitirá, que cada vez sean más pleno desde los poderes como humano y a su vez, se hallan dado dentro de una familia que permite el desarrollo de fortalezas en los momento que más la necesito.

Y agradezco por que Díos al final de la validación del conocimiento y del desarrollo profesional me permitiera tropezarme con una persona que en el momento de obrar en el principio de cumplimiento de su deber, ha sabido transmitir su conocimiento, sin desbordar los marcos tradicionales de la formación académica, y por demostrar sin decirlo, que el conocimiento es un desafío constante; no un lugar de reposo, sino un crecer, trabajar duro, y de esta forma no verlo como un lugar donde se pierde la humildad para imponer la "sabiduría"; como lo es la Dra. Silvia Botelho, por que la considero una verdadera maestra dentro de esta institución deductiva.

Dedico este trabajo de grado a mi mismo, por que me amo a mi mismo, y por que elegí ser lo que soy.

La Enseñanza

*Entonces, dijo un maestro:
Hablamos de la enseñanza.
Y él dijo:*

Ningún hombre puede revelaros nada distinto de lo que, a medio dormir, reposa en el aura de vuestro conocimiento.

El maestro que en medio de sus seguidores se pasea a la sombra del templo, no da de su sabiduría, sino más bien se su fe y sus sueños.

Y si es en verdad un sabio, él no os convidará a la casa de su sabiduría, sino que os conducirá, más bien, al umbral de vuestro propio pensamiento.

El astrónomo puede hablarnos de su conocimiento del espacio, pero no daros su manera de entender.

El músico puede cantaros las cadencias que hay en todo el espacio, pero no puede daros oídos que retengan esas cadencias, ni la voz que la module.

El sabio verdadero en la ciencia de los números, puede hablarnos de los mundos de las pesas y las medidas, más no podrá conducirnos a esos mundos.

Porque la visión de un hombre no presta sus alas a otro hombre.

Y, así, como cada uno de vosotros es un aislado en el conocimiento que tiene Díos de vosotros, así, también, cada unos de vosotros tiene que ser un caso aislado en su manera de conocer a Díos, y de entender el mundo.

Jalil Gibrán.

Índice de Contenido

Resumen	1
Abstrat	1
Justificación	2
Objetivos	7
Planteamiento del problema	8
Hipótesis	9
Referente Conceptual	10
Depresión	10
Ansiedad	12
Comorbilidad	16
Modelos de animales de depresión y ansiedad	17
Aislamiento social	19
Anhedonia	21
Modelos animales de ansiedad	28
Re-socialización	33
Materiales y Método	35
Diseño	35
Animales	35
Instrumentos	36
Procedimiento	38
Análisis de Datos	42
Resultados	44
Discusión	57
Conclusiones	73
Recomendaciones	74

Referencias	75
Anexos	93

Índice de Tablas

Tabla 1: Distribución de grupos de animales según esquema de alojamiento continuo durante 21 días.

Tabla 2: Correlación entre el promedio del consumo de la solución de sacarosa (ml) en cada fase de la prueba (F1, M y R) y las variables comportamentales derivadas de la exploración del LCE.

Tabla 3: Correlación entre el consumo en gramos de sacarosa por volumen consumido, el consumo de sacarosa en gramos por volumen consumido 10 minutos antes de la exposición al LCE y las variables comportamentales derivadas de la exploración en el LCE.

Tabla 4: Correlación entre las variables comportamentales derivadas de la exploración del LCE vs los niveles de glicemia post LCE.

Índice de Gráficas

Gráfico 1: Consumo de sacarosa vs agua

Gráfico 2: Consumo de solución de sacarosa

Gráfico 3: Consumo de sacarosa en gramos por volumen consumido

Gráfico 4: Consumo de sacarosa en el último día de la fase de memoria (10 minutos antes de exponer cada rata al LCE)

Gráfico 5: Frecuencia absoluta (EBA) y porcentaje de entradas en los brazos abiertos (%EBA) del laberinto en cruz elevado.

Gráfico 6: Tiempo absoluto (TBA) y porcentaje de tiempo (segundos) de permanencia en los brazos abiertos (%TBA) del laberinto en cruz elevado.

Gráfico 7: Cruzamientos

Gráfico 8: Glicemia post LCE

Índice de Anexos

Anexo 1: Cajas de acrílico

Anexo 2: Cajas de acero inoxidable

Anexo 3: Prueba de Consumo de Sacarosa

Anexo 4: Laberinto en Cruz Elevado

Anexo 5: Circuito Cerrado de Televisión

Resumen

Evaluación de las manifestaciones comportamentales de tipo “depresión-ansiedad” en ratas sometidas al aislamiento social crónico.

El aislamiento social crónico ha sido utilizado en diversos estudios para producir comportamientos de “tipo depresivo” en ratas. El objetivo del presente estudio fue evaluar la preferencia por el consumo de diferentes concentraciones de sacarosa como indicador del perfil anhedónico y el comportamiento de “tipo ansioso” en el Laberinto en Cruz Elevado (LCE) de ratas sometidas al aislamiento social crónico. Se evaluaron 96 ratas Wistar machos las cuales fueron alojadas en grupo o aisladas socialmente durante 21 días y expuestas 4 días consecutivos a la prueba de consumo de sacarosa. Cuatro días después, fueron reexpuestas a la misma prueba de consumo quienes, inmediatamente después fueron sometidos al LCE. Terminada la exposición a este modelo todas las ratas fueron re-socializadas por 72 horas y, sometidas a la última prueba de consumo. Los resultados del presente estudio demostraron que el aislamiento social crónico produjo un comportamiento de tipo anhedónico en ratas, lo que pudo ser revertido por 72 horas de resocialización, más no un perfil ansiogénico en el LCE.

Palabras claves: ansiedad, depresión, estrés, aislamiento social y anhedonia

Abstract

Evaluation of the behavioral manifestations “depression-anxiety type” in rats submitted to chronic social isolation.

The chronic social isolation has been used in diverse studies to produce “depressive type” behaviors in rats. The objective of the present study was to evaluate the preference by the consumption of different sucrose concentrations as an indicator of anhedonic profile and the “anxious type” behavior in the Elevated Plus Maze (EPM) in rats submitted to chronic social isolation. 96 male Wistar rats were housed in group or isolated socially during 21 days and exposed 4 consecutive days to the test of sucrose consumption. Four days later, they were re-exposed to the same test of consumption and, immediately later were evaluated in the EPM. At the end of the exposure to this model, all the rats were re-socialized for 72 hours and, submitted to the last test of consumption. The results of the present study demonstrated that the chronic social isolation produced anhedonia in the rats, which was reverted by 72 hours of re-socialization, but not an anxiogenic profile in the LCE.

Key words: anxiety, depression, stress, social isolation and anhedonia.

Justificación

El ambiente ha influido en el comportamiento del ser humano desde su origen, el cual experimenta una serie de emociones como la ira, la alegría, la tristeza, y la ansiedad; estados emocionales que son inseparables de la condición humana. Sin embargo, al enfrentarse cotidianamente con perturbaciones, conflictos, crisis, pérdidas, carencias y otras situaciones que le resultan estresantes, suelen sufrir cambios en la funcionalidad de algunas estructuras cerebrales que conllevan una respuesta emocional y conductual anormal, favoreciendo la aparición de algunos desordenes mentales, entre ellos la depresión y los trastornos de ansiedad (Matuszewich et al., 2007; Rodríguez, Pulido & Saavedra, 2007).

De manera general, los desórdenes mentales son una preocupación importante en todo el mundo, pero en especial el desorden de depresión mayor (DDM) (Kessler et al., 2003; Slone et al., 2006). En este contexto, en lo que se refiere a los países en desarrollo, esta enfermedad constituye el cuarto problema de salud más importante, con una morbilidad total de 3.4% (Gómez et al., 2004). Desde diversas perspectivas, no cabe duda que el aumento de los padecimientos y síntomas característicos del MDD originan graves problemas de salud pública, ya que generan condiciones desadaptativas que son causa importante de la incapacidad a nivel mundial, sobrellevando además a grandes pérdidas económicas (Grippio, Na, Johnson, Beltz & Jonson, 2004; Páez, Hernández & Baptista, 2003).

Según los datos disponibles (Gómez et al., 2004) en Colombia, la depresión también es un problema actual de salud pública que requiere mayor atención y un conocimiento más preciso de su distribución en las diferentes regiones del país. Algunos estudios realizados han mostrado que el 11,8% de la población colombiana encuestada presentaba indicadores de depresión leve y el 4% sufría de depresión mayor -moderada o grave- (Gómez & Rodríguez, 1997). En estudio

posterior realizado por el Ministerio de Protección Social (2003) sobre la prevalencia de vida de trastornos mentales reveló que los trastornos del afecto (depresión y distimia) presentan una prevalencia del 13.9%. De esta manera, la falta de continuidad de los estudios y el empeoramiento de las condiciones sociales y económicas que sufre el país desde hace varios años, hacen impostergable la actualización de la información relacionada con esta patología.

El DDM está relacionado altamente con la inhabilidad de realizar actividades normales, problemas en el funcionamiento social y cognoscitivo (Slone et al., 2006). Se caracteriza por una alteración principal en el afecto, con episodios que pueden durar varias semanas o meses, en los cuales los pacientes sufren de pérdida de interés, sentimientos de infravaloración, culpa, déficit cognitivo y uno de los síntomas que más distingue este trastorno que es la incapacidad para experimentar placer (anhedonia) (Páez et al., 2003).

La anhedonia es definida como la capacidad disminuida de experimentar placer y ha sido considerado históricamente como la característica clínica más importante tanto de la esquizofrenia como de los desordenes afectivos (Blanchard, Horan & Brown, 2001). En este contexto, según algunos autores, el síntoma anhedónico es el síntoma más importante para diagnosticar el trastorno depresivo (Schmidt et al., 2001).

Como se ha mencionado anteriormente, los trastornos de ansiedad también se constituyen en uno de los desordenes mentales consecuentes a la exposición del individuo a diferentes factores adversos. La ansiedad se define como un estado emocional subjetivamente vivenciado, como desagradable y amenazador, que produce alteraciones de humor y de cognición generalmente acompañados por alteraciones comportamentales y fisiológicas (Shuhama, Del-Ben, Loureiro & Graeff, 2007). Cada uno de nosotros, en cualquier momento de nuestras vidas hemos experimentado ansiedad, un sentimiento de aprensión o de tensión ante situaciones de estrés (Rozanski, Blumenthal & Kaplan, 1999). Considerada una reacción normal y necesaria

para la supervivencia de los individuos y de nuestra especie, esta forma de ansiedad no representa disfuncionalidad, ya que en alguna medida es una reacción ante el estrés que ayuda en el funcionamiento diario de las personas. Sin ansiedad, los seres humanos careceríamos de la motivación necesaria para vivir y desarrollar las actividades diarias (Bekker, Legare, Stacey, O'Connor & Lemyre, 2003; Brandão, 2001). No obstante, las reacciones de ansiedad pueden alcanzar niveles excesivamente altos o pueden ser poco adaptativas en determinadas situaciones, cuya característica fundamental es una gran aprensión y tensión hacia estímulos del entorno que no están definidos pero que provocan una respuesta exagerada a los mismos y pueden estar acompañados por una o más sensaciones físicas (Graeff, 1997). En este caso la reacción deja de ser normal y se torna patológica.

Estados de ansiedad usualmente referidos como trastornos de ansiedad, pueden ser definidos como condiciones primariamente caracterizadas por ansiedad patológica. Pueden manifestarse como crisis o ataque, en forma abrupta y episódica, o sea, en forma persistente, fluctuante o continua, como consecuencia de sucesos vitales estresantes reiterados o en forma de crisis situacional. Dichos trastornos son clasificados de acuerdo con la sintomatología, el curso temporal y respuesta terapéutica. La clasificación más utilizada es la elaborada por la American Psychiatric Association, 1994, titulada *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (4th ed., DSM-IV) la cual comprende los siguientes trastornos de ansiedad primaria: trastorno obsesivo-compulsivo, agorafobia sin historia de trastorno de pánico, fobia específica, fobia social, trastorno de pánico con agorafobia, trastorno de pánico sin agorafobia, trastorno por estrés post-traumático, trastorno por estrés agudo, trastorno de ansiedad por enfermedad médica general, trastorno de ansiedad inducido por sustancias, trastorno de ansiedad no especificado y trastorno de ansiedad generalizada.

Estudios epidemiológicos han demostrado que los trastornos de ansiedad son los trastornos psiquiátricos más frecuentes en la población general (Blazer, 1984, citado por Brawman et al., 1997). En particular, según el Estudio Nacional de Salud Mental (ENSM) Colombia 2003 (Posada & Fuentes, 2004), a partir de la base de datos aprobada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Universidad de Harvard para el ENSM, donde participaron un total de 4.544 adultos, se encontró que la prevalencia de tener durante el transcurso de la vida cualquier trastorno CIDI-OMS/ DSM-IV es del 40.1 por ciento, siendo los trastornos de ansiedad los más altos durante la vida (19.5 por ciento). En particular, uno de los trastornos mentales más comunes a nivel mundial con una prevalencia del 12%, según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001), es el trastorno de ansiedad generalizada.

Los trastornos de ansiedad no son los únicos cuadros psiquiátricos con niveles patológicos de ansiedad; suelen presentarse de manera frecuente también en la depresión (Spielberger, Buela, Agudelo, Carretero & Santolaya, 2005). En conformidad, en un estudio reciente se ha demostrado que padecer un trastorno de ansiedad en edades tempranas predice un amplia gama de desordenes psiquiátricos, en especial el trastorno de depresión mayor (Bittner et al., 2007).

Con base en lo anterior, algunos autores consideran los trastornos ansiosos y depresivos como parte de un continuo que va desde la ansiedad leve a la depresión melancólica. De esta manera, se estima que en un 30 a 40 % de los pacientes con sintomatología depresiva, la principal manifestación es de ansiedad (Gentil, 1997). Es así como se ha relatado la presencia de comorbilidad sintomática (Spielberger et al., 2005) y de diagnóstico substancial entre estas dos psicopatologías, además, de presentar una respuesta común a tratamientos farmacológicos (Watson et al., 1995). Adicionalmente, algunas investigaciones más recientes han demostrado que los substratos comunes, y fundamentales de la emoción humana están comprometidos tanto

en ansiedad como en los desórdenes depresivos (Shelton & Tomarken, 2001), favoreciendo la comorbilidad existente entre estas dos patologías.

Por todo lo anteriormente expuesto, no cabe duda que la depresión y los trastornos de ansiedad son entidades complejas y de alta prevalencia a nivel mundial y nacional; sin embargo, la fisiopatología y los mecanismos farmacológicos asociados, son aún poco conocidos. Así, por razones éticas y metodológicas se requiere el desarrollo y utilización de modelos animales que permitan la investigación controlada de los procesos neurobiológicos a ellas asociados (Botelho & Conde, 2001). En este sentido, considerando la importancia del síntoma anhedónico de la depresión y que la sacarosa es un reforzador primario (Hall, Humby, Wilkinson & Robbins, 1997), algunos estudios han utilizado la Prueba de Consumo de Sacarosa para la comprensión de los procesos neurobiológicos subyacentes a esta patología. Dentro de este contexto, la anhedonia es interpretada operacionalmente como un decrecimiento en la sensibilidad a recompensas (Sammut, Bethusb, Goodallb & Muscata, 2002; Willner, 2005).

En algunos estudios se ha encontrado que el perfil anhedónico de los roedores están asociados con una reducción en el consumo de soluciones de baja concentración de sacarosa (Argyropoulos & Nutt, 1997; Grippo, Beltz & Johnson, 2003; Hout, Thirivikraman, Meaney & Plotsky, 2001; Muscat & Willner 1992; Rygula et al., 2005; Willner, 1997), mientras que en otros con un incremento de soluciones más concentradas (32% a 34%) (Hall et al., 1997; Sammut et al., 2002). Por lo tanto, desde el punto de vista operacional algunos estudios consideran la “anhedonia” como una disminución en el consumo de bajas concentraciones de sacarosa (Grønli et al., 2004), mientras que otros la consideran como un aumento en el consumo de soluciones más concentradas (Hall et al., 1997; Sammut et al., 2002).

Considerando que la Prueba de Consumo de Sacarosa ha ofrecido resultados aún contradictorios, la presente investigación se propone explorar la efectividad de la misma como un

modelo específico para evaluar el síntoma anhedónico en ratas y al mismo tiempo explorar la relación entre el comportamiento de “tipo depresivo” y de “tipo ansioso” de ratas como un aporte a la neurobiología de los trastornos depresivos-ansiosos. Finalmente, el presente proyecto pretende aportar a la formación de jóvenes investigadores y al fortalecimiento de una de las líneas de investigación del Grupo de Neurociencias y Comportamiento titulada “Evaluación de modelos animales de ansiedad y depresión”.

Objetivos

General

Evaluar las manifestaciones comportamentales de tipo “depresión-ansiedad” en ratas sometidas al aislamiento social crónico.

Específicos

1. Evaluar la preferencia por el consumo de cuatro concentraciones diferentes (4%, 8%, 16% y 32%) de sacarosa en ratas sometidas al aislamiento social crónico.
2. Evaluar los efectos comportamentales de tipo ansioso en ratas expuestas al Laberinto en Cruz Elevado (LCE) sometidas al aislamiento social crónico.
3. Correlacionar el consumo de las diferentes concentraciones de sacarosa con el comportamiento de las ratas en el LCE.
4. Evaluar los efectos de 72 horas de resocialización sobre el consumo de las diferentes concentraciones de sacarosa en ratas sometidas al aislamiento social crónico.

Planteamiento del Problema

A partir de las anteriores consideraciones teóricas en las cuales se enfatiza la alta prevalencia de los trastornos depresivos y la alta comorbilidad de éstos con los trastornos de ansiedad, en el presente trabajo se plantea los siguientes cuestionamientos:

1. ¿El aislamiento social crónico produce en las ratas un patrón de consumo de diferentes concentraciones de sacarosa característico de un perfil anhedónico?
2. ¿El aislamiento social crónico de ratas produce comportamiento de “tipo ansiedad” en el Laberinto en Cruz Elevado?
3. ¿Existe una correlación entre la preferencia por el consumo de diferentes concentraciones de sacarosa y el comportamiento de “tipo ansioso” de ratas en el Laberinto en Cruz Elevado?
4. ¿El patrón de consumo de diferentes concentraciones de sacarosa en ratas sometidas al aislamiento social crónico cambia después de 72 horas de resocialización?

Hipótesis

Si el aislamiento social crónico induce cambios comportamentales compatibles con el síntoma anhedónico, se esperaría que las ratas alojadas en estas condiciones manifiesten diferencias relacionadas con el consumo de las diferentes concentraciones de sacarosa.

Si el aislamiento social crónico induce cambios comportamentales compatibles con la ansiedad, se esperaría que las ratas alojadas en estas condiciones manifiesten comportamientos de “tipo ansioso” en el Laberinto en Cruz Elevado.

Si el aislamiento social crónico de ratas produce manifestaciones comportamentales características de un estado depresivo-ansioso, se esperaría encontrar una correlación entre la preferencia en el consumo de las cuatro concentraciones de sacarosa y el perfil ansiogénico en el Laberinto en Cruz Elevado.

Si en el modelo del aislamiento social, la privación social crónica es el principal estresor capaz de producir anhedonia en ratas, evidenciada por la baja sensibilidad a la recompensa evidenciada en la Prueba de Consumo de Sacarosa, se esperaría que la resocialización de las mismas cambiara el patrón de preferencia en el consumo de las soluciones.

Referente Conceptual

Depresión

Dentro de los trastornos del estado de ánimo, la depresión es uno de los problemas que mas reviste importancia debido a su alta prevalencia y comorbilidad con otros trastornos (Bittner et al., 2007; Gómez et al., 1997; Spielberger et al., 2005). Por lo tanto, consiste en una preocupación importante en el ámbito de la salud pública, representando una de las causas más significativas de la inhabilidad y de la morbosidad.

El concepto de depresión ha sido operacionalizado a partir de los indicadores clínicos del DSM-IV, puesto que el constructo de Episodio Depresivo Mayor es la base del diagnóstico del trastorno depresivo e incluye una visión de la depresión clínica (Vázquez & Sanz, 1995 citado por Cadavid, Delgado & Prieto, 2007). Se caracteriza como un trastorno multifactorial y paradigmático en el que el riesgo de desarrollarlo depende de una amplia gama de factores que incluyen la predisposición genética, rasgos predisponentes de la personalidad, experiencias traumáticas, acontecimientos estresantes, abuso de sustancias, baja autoestima, falta de apoyo social, una educación deficiente, dificultades de la vida reciente (Kendler, Gardner & Prescott, 2006) y en algunos casos el infarto del miocardio (Wann et al., 2007), entre otros. Efectivamente, en la mayoría de los pacientes, los episodios depresivos surgen de la combinación de factores familiares, biológicos, psicológicos y sociales, los cuales operan a través del tiempo y progresivamente incrementan su capacidad patogénica (Guadarrama, Escobar & Zhang, 2006).

El trastorno depresivo mayor (TDM) es una de las enfermedades mentales de mayor prevalencia en el mundo occidental y se convertirá, según datos de la Organización Mundial de la Salud, en la segunda causa de incapacidad en el mundo en el año 2020 (después de las enfermedades coronarias) (Murray & López, 1996, citado por García, López & Tomaz, 2007).

Se constituye en uno de los trastornos médicos más frecuentes e incapacitantes (Roca & Baca, 2006) pues se relaciona altamente con la inhabilidad de realizar actividades normales, ausentismo en el trabajo, y problemas en el funcionamiento social y cognoscitivo (Kessler et al., 2003). Por otra parte, puede ser un factor de riesgo para otras enfermedades (Shelton et al., 2001) como la cardiopatía isquémica entre muchas otras (Eisendrath, Nestler et al., citados por Páez et al., 2003). Adicionalmente, estudios realizados en Estados Unidos han demostrado que aproximadamente el 16,2% de la población sufre de depresión mayor en algún momento de su vida, de los cuales un tercio requiere atención médica especializada por la perturbación de su entorno familiar, laboral y social (Kessler et al., 2003).

En el ámbito nacional, en un estudio realizado por Gómez y sus colaboradores (2004), se demostraron que el 10% de las personas estudiadas presentaron algún episodio depresivo en los 12 meses previos a la encuesta y 8,5% sufrieron alguno durante el último mes. Hubo una mayor proporción de mujeres con depresión en ambos períodos. Más del 50% de los episodios fueron moderados tanto en hombres como en mujeres, y las mayores prevalencias se encontraron en las personas mayores de 45 años. A pesar de que las mujeres son doblemente susceptibles a sufrir depresión y los síntomas generalmente se incrementan con la edad, a pesar de eso más hombres que mujeres mueren por suicidio (Baldwin & Birtwistle 2002 y Sadock, Sadock, Kaplan & Sadock's, 1999, citados por Guadarrama et al., 2006).

De manera general, las características principales del síndrome depresivo incluyen el ánimo depresivo, que puede a veces ser muy difícil de diagnosticar, y tiene como componentes fundamentales la anhedonia o incapacidad de sentir placer o de disfrutar las cosas que habitualmente se disfrutaban, y el desánimo o dificultad para interesarse o iniciar una actividad (también llamado desgano). De esta manera, el TDM afecta varios componentes del individuo, generando síntomas tanto psicológicos como fisiológicos.

Los síntomas psicológicos están asociados a sentimientos de tristeza, pena, desanimo, humor deprimido, sentimiento de minusvalía, abandono, pérdida de la capacidad para experimentar placer (anhedonia), inquietud, hiperactividad, culpabilidad e irritabilidad, disturbio del sueño, ideas de autodaño o suicidio (Guadarrama et al., 2006). Adicionalmente, otra de las características clínicas principales de la depresión se relaciona con la alteración de los procesos cognitivos superiores como pensamientos recurrentes de culpabilidad, pesimismo y suicidio, muchos de los cuales no son factibles de modelar en la especie no humana. (Matthews & Robbins, 2003) Adicionalmente, se ha demostrado que el TDM es una entidad que presenta episodios depresivos con tendencia a la recurrencia, o con períodos libres de síntomas (Baca & Rubio, 2006).

Desde el punto de vista fisiológico, el cuadro depresivo generalmente es acompañado por alteración del apetito (Guadarrama et al., 2006) con pérdida o ganancia de peso (Matthews et al., 2003), indigestión, palpitaciones, temblor, sudoración, dificultad para respirar y dolor (Graeff & Brandão, 1993; Stahl, 1996).

Ansiedad

Cada uno de nosotros, en cualquier momento de nuestras vidas hemos experimentado ansiedad, un sentimiento de aprensión o de tensión ante situaciones de estrés (Rozanski et al., 1999). También puede ser descrita como un estado emocional subjetivamente vivenciado como desagradable, amenazador, de intranquilidad y excitación nerviosa, que se caracteriza por una preocupación excesiva, agobiante e incontrolable y/o por una gran aprensión y tensión hacia estímulos del entorno que, aunque no estén bien definidos, provocan respuestas exageradas (Baca et al., 2006). Incluye síntomas afectivos, cognitivos y motores generalmente, acompañados por

manifestaciones fisiológicas derivadas de la activación del Sistema Nervioso Simpático (Bekker et al, 2003; Pratt & Kelle 1992). Estas se caracterizan por un aumento de la frecuencia cardiaca, temblor, tensión muscular, vértigo, sudoración, náuseas, piloerección, insomnio, falta de aire y sofocación, así como respuestas de sobresalto exageradas. Adicionalmente, son acompañadas de manifestaciones neuroendocrinas consecuentes a la activación del eje hipotálamo- hipófisis- adrenal (Graeff, 1997).

Desde el punto de vista afectivo, la ansiedad está asociada a una sensación de estrangulamiento o constricción, tristeza e irritabilidad. Los síntomas cognitivos están asociados a cambios con respecto a la percepción que el individuo hace del mundo exterior y del significado que da a los acontecimientos, evaluando las situaciones como amenazantes o no, incluyendo irritabilidad, inquietud y problemas de concentración (Botelho et al., 2001; Graeff, 1997). A nivel motor, los síntomas se asocian a la evitación de situaciones que la persona considera como amenazantes o conflictivas, hiperactividad, conductas de carácter compulsivo y dificultad en la toma de decisiones (Graeff & Brandão, 1993).

El límite entre lo que se denomina ansiedad normal y patológica es muchas veces difícil de establecer. Un cierto grado de ansiedad puede ser útil para motivar un buen desempeño en tareas cognitivas (Graeff, 1997), así como puede ser una respuesta de alerta necesaria contra la amenaza o un estímulo estresante (Pratt et al., 1992). Sin embargo, se torna patológica cuando las respuestas al estímulo percibido alcanzan niveles excesivamente altos, los cuales interfieren en la capacidad de la persona de funcionar normalmente, perturbando acentuadamente su desempeño (Pratt et al., 1992).

La ansiedad patológica puede ser secundaria a otras enfermedades de naturaleza psiquiátrica o no, así como puede ser la manifestación principal o única de un cuadro clínico. Estados de ansiedad usualmente referidos como trastornos de ansiedad, pueden ser definidos

como condiciones primariamente caracterizadas por ansiedad patológica. Pueden manifestarse como crisis o ataque, en forma abrupta y episódica, o sea, en forma persistente, fluctuante o continua, como consecuencia de sucesos vitales estresantes reiterados o en forma de crisis situacional. Dichos trastornos son clasificados de acuerdo con la sintomatología, el curso temporal y repuesta terapéutica.

La clasificación más utilizada es la elaborada por la American Psychiatric Association, 1994, titulada Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed., DSM-IV) la cual comprende los siguientes trastornos de ansiedad primaria: trastorno obsesivo-compulsivo, agorafobia sin historia de trastorno de pánico, fobia específica, fobia social, trastorno de pánico con agorafobia, trastorno de pánico sin agorafobia, trastorno por estrés postraumático, trastorno por estrés agudo, trastorno de ansiedad por enfermedad médica general, trastorno de ansiedad inducido por sustancias, trastorno de ansiedad no especificado y trastorno de ansiedad generalizada. Entre estos, los trastornos de ansiedad más comunes son trastorno de pánico, trastorno de ansiedad social, el trastorno por estrés postraumático y el trastorno de ansiedad generalizada (Kroenke, Spitz, Williams, Monahan & Lowe, 2007).

Según el DSM-IV, *el trastorno de pánico*, se caracteriza por la ocurrencia de ataques de pánico, en los cuales hay sensaciones de extremo miedo y de pavor inesperado y en varias ocasiones, son acompañadas por síntomas fisiológicos marcados. *Las fobias* se caracterizan por la presencia de ansiedad clínicamente significativa como respuesta a la exposición o situaciones u objetos específicos temidos (*específicas*) o como respuesta a ciertas situaciones sociales o actuaciones en público del propio individuo (*social*), lo que suele dar lugar a comportamientos de evitación. Ya el *trastorno obsesivo compulsivo*, es caracterizado por los pensamientos, indeseados y repetidos (obsesiones) y/o por rituales (compulsiones) que se realizan para apaciguar la ansiedad. El *trastorno por estrés pos-traumático*, se caracteriza por la

reexperimentación de acontecimientos altamente traumáticos, síntomas debidos al aumento de la activación y comportamientos de evitación de los estímulos relacionados con el trauma. El *desorden por estrés agudo*, se caracteriza por síntomas parecidos al trastorno por estrés post-traumático que aparecen inmediatamente después de un acontecimiento altamente traumático. Al contrario del trastorno de pánico que tiene carácter episódico, el *trastorno de ansiedad generalizada*, se caracteriza por la presencia de ansiedad exagerada y crónica, y por preocupación diaria y persistente durante al menos 6 meses. Se caracteriza por respuestas de estrés y sensaciones extremas de ansiedad, que se producen en ausencia de cualquier estímulo precipitante obvio (Pine1, 2007).

Una gran cantidad de individuos divulgan altos niveles de ansiedad en sus vidas, como causa negativa potencial que se asoció a la exposición crónica de estímulos estresantes (Matuszewich et al., 2007). Por lo tanto, no es sorprendente la amplia prevalencia y estrecha relación de la ansiedad con los diferentes trastornos psicológicos y somáticos. No deja de ser una de las emociones más ampliamente estudiadas y paradigmáticas, debido a que la mayor parte de los trastornos tipificados en los manuales de diagnóstico clínico, se definen básicamente por trastornos emocionales, y de éstos una gran porción corresponde a los trastornos de ansiedad (American Psychiatric Association, 1994).

Es desafortunado el predominio de la ansiedad y el impacto substancial en el funcionamiento, la productividad del trabajo, y los costos médicos en el cuidado de pacientes. Más de 30 millones de americanos tienen una historia de la ansiedad en el curso de la vida, y los desórdenes de ansiedad cuestan aproximadamente \$42 mil millones de dólares por año solo en los Estados Unidos, contando costos directos e indirectos (Kroenke et al., 2007)

En Colombia, según el Estudio Nacional de Salud Mental (ENSM, 2003), dentro de los trastornos mentales de mayor interés en el ámbito nacional, también por el incremento de su

prevalencia, se encuentran los trastornos de ansiedad (trastorno de angustia, ansiedad generalizada, fobia social, fobia específica, y estrés post-traumático) con una prevalencia del 19.3% de la población entre los 18-65 años, frente a otros trastornos (estado de ánimo y uso de sustancias), siendo mas frecuente entre las mujeres y a su vez, apareciendo en edades tempranas. No obstante, solo el 1.9% de los que la sufren acuden al psiquiatra para el tratamiento (Posada, Buitrago, Medina & Rodríguez, 2006).

Comorbilidad

La ansiedad y la depresión son los dos problemas de salud mental más comúnmente considerados en el ajuste médico general (Kroenke et al., 2007). Si bien se ha definido y caracterizado en los apartados anteriores la depresión y la ansiedad como si fueran estados emocionales independientes, existen relatos clínicos que indican que la ansiedad puede estar asociada a otros trastornos mentales (Gentil, 1997), es decir, se puede presentar como un indicio de una serie de disturbios mórbidos de otras psicopatologías como la depresión (Bittner et al., 2007; Cassano & Micheline, 1995; Nestler, Hyman & Malenka, 2001; Spielberger et al., 2005;). En este sentido, se ha descrito en la literatura evidencias de una gran comorbilidad de sintomatología y de diagnóstico substancial entre ansiedad y depresión donde se enfatiza la existencia de una respuesta común a los tratamientos, incluyendo psicoterapias como por ejemplo, la cognitivo-comportamental, y la farmacológica con los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (Watson et al., 1995).

Esencialmente, investigaciones recientes han demostrado que los substratos comunes, fundamentales de la emoción humana, están involucrados tanto en los desordenes de ansiedad como en los desórdenes depresivos (Shelton et al., 2001). Así, según este mismo autor citando a

Kendler et al., 1992, los resultados de varios estudios indican que el desorden de ansiedad generalizado y la depresión mayor tienen una diátesis genética común y que las diferencias entre las dos condiciones se pueden determinar por los factores ambientales más que por los genéticos.

Modelos animales depresión y ansiedad

A pesar de los avances significativos en la definición de las disfunciones cognoscitivas, emocionales y neurales específicas asociadas a la depresión, ha sido frustrante el poco progreso en la elucidación de los mecanismos etiológicos y patofisiológicos a ella asociados (Matthews et al., 2003). Por lo tanto, considerando la complejidad de las disfunciones multi-sistémicas de la enfermedad depresiva, las implicaciones éticas de los estudios neurobiológicos en humanos y que la compleja interacción entre genoma y ambiente es difícil de estudiar en poblaciones clínicas, especialmente donde hay pocas técnicas que permiten la evaluación directa de la función neural, hay necesidad de desarrollar y utilizar modelos válidos y confiables de psicopatología afectiva en animales de laboratorio (Matthews et al., 2003). Principalmente, porque los estudios con modelos de experimentación animal permiten el diseño anticipado de hipótesis y manipulaciones experimentales de variables independientes, ofreciendo oportunidades valiosas de ejercer control sobre las mismas, las cuales podrían influir en la etiología de la depresión (Matthews et al., 2003).

El estrés de la vida temprana, tanto en la clínica psiquiátrica como en los modelos experimentales, ha sido considerado como uno de los principales factores etiológicos asociados a la depresión. De esta manera, el estudio de los efectos neurobiológicos y comportamentales de las manipulaciones del ambiente precoz y la experiencia temprana son frecuentemente utilizados para modelar la etiología de la depresión. El estrés de la vida temprana ha sido definido como respuesta del organismo que implica activación generalizada promovida por cualquier estímulo

que tenga características de la novedad, amenaza, de conflicto o del desequilibrio homeostático (Ursin, 1978, citado por Cabib & Puglisi, 1996) y a su vez se ha encontrado una frecuente asociación o entre el estrés, en particular estrés crónico y la posible precipitación de enfermedades humanas incluyendo la depresión mayor, el abuso de alcohol y la enfermedad cardiovascular (McEwen, 1998; McEwen & Stellar, 1993).

La idea de que situaciones estresantes, con poco control por parte del sujeto, derivan con frecuencia en la aparición de cuadros depresivos, además de aceptable para la comunidad científica, es una fuente teórica acerca del origen del cuadro depresivo (Juárez, 2007). Desde este punto de vista, la activación aguda de las respuestas adaptables durante la tensión aumenta y altera el metabolismo que restaura la activación repetida o aberrante de la homeostasis de esta respuesta, la cual puede desencadenar o empeorar las enfermedades médicas y psiquiátricas (McEwen, 1998; Schaefer et al., 2000). A su vez, el estrés puede afectar el comportamiento, el sistema pituitaria-adrenocortical y simpato-adrenomedular (Cabib et al., 1996; Saldaña, Natasa, Ljubica & Varavic, 2007).

Como consecuencia de lo anterior, se han realizado esfuerzos para el desarrollo de modelos animales de depresión fundamentados en la participación del estrés como factor de riesgo asociado a la depresión. Sin embargo, ha sido un reto para la creatividad científica crear situaciones estresantes repetidas con el objetivo de simular la cronicidad necesaria para generar respuestas características de la depresión. De esta manera, los modelos de estrés involucran el comportamiento anormal generado por la exposición del animal a una serie de eventos o situaciones estresantes predecibles o no. Entre los modelos más utilizados se encuentra los de estrés crónico moderado (ECM), los cuales han demostrado gran eficacia en la generación de cuadros depresivos y tienen un alta validez, tanto por su capacidad predictiva como de apariencia también teórica (Willner, 2005). Así, los modelos animales de depresión basados en los

estresores experimentales ofrecen una oportunidad única de estudiar las alteraciones del cerebro inducidas por la tensión, un factor psicopatogénico ampliamente reconocido en lo referente a comportamiento análogo a los síntomas humanos (Cabib et al., 1996).

Varios de estos modelos han sido utilizados en roedores para investigar cambios comportamentales asociados, mecanismos fundamentales del tratamiento, función neuroendocrina asociada y alteraciones inmunes y cardiovasculares asociadas a la depresión, además de modelar uno de sus síntomas más importantes que es la anhedonia (Grippe et al., 2004).

Aislamiento Social

Uno de los modelos mas utilizados para inducir estrés crónico es el modelo del aislamiento social, fundamentado en algunos estudios que demostraron 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 maternal (Bassi, Nobre, Carvalho & Brandão, 2007; Botelho et al., 2001). Efectivamente, el aislamiento social y cambios ambientales agudos son factores de riesgo en la depresión humana y representan la falta de estímulo social necesario para modular respuestas adaptativas a una nueva situación (Ishida, Mitsui, Nukaya, Matsumoto & Tsuji, 2003). Este modelo consiste en tomar la rata del laboratorio y someterla al aislamiento “social” temprano (Weiss, Pryce, Jongen-Rêlo., Nanz & Feldon, 2004). Se conduce desde el destete a la edad adulta y priva animales del contacto social durante una fase crítica de su vida que se caracteriza por el desarrollo del juego social (Weiss et al., 2004).

Los animales alojados individualmente mantienen contactos olfativos, visuales y auditivos con otros coespecíficos, pero no contacto físico. Así, la carencia del contacto físico, por si sola,

genera una gama de reacciones comportamentales y fisiológicas que afectan considerablemente la reactividad emocional de las ratas adultas, 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), y a su vez, un perfil ansiogénico cuando se exponen en el Laberinto en Cruz Elevado (LCE) (Weiss et al., 2004), aumentando la aversión de roedores a los brazos abiertos del laberinto (Gameiro et al., 2006; Morato & Brandão, 1997). El aislamiento social también genera comportamientos espontáneos, como elevada actividad locomotora o ambivalencia a la novedad, donde el aislamiento se asocia a una tendencia creciente a explorar (Sahakian, Robbins & Iversen, 1977) y a la timidez (Einon & Tye, 1975, citado por Haller & Halász, 1999).

Por otra parte, también se ha encontrado que el aislamiento social puede cambiar los efectos de drogas ansiolíticas como el Diazepan y que, a su vez, induce cambios neuroquímicos importantes (Ehlers, Kaneko, Owens & Nemeroff, 1993; Gambardella, Greco, Sticchi, Bellotti & Di Renzo, 1994; Hall, Huang, Fong & Pert, 1998; Saldan et al., 2006). Con este modelo, se han demostrado que la exposición a estímulos estresantes aumenta los comportamientos asociados tanto con la ansiedad (Holson et al., 1991; Dúplex et al., 1993, citados por Haller & Halász, 1999) como con la depresión, pues la exposición de roedores a la tensión imprevisible, como se ha mencionado anteriormente, ha dado lugar a los perfiles comportamentales indicativos del estado psicopatológico humano (Matuszewich et al., 2007), mientras que se proporciona el mayor control de variables experimentales.

De igual forma, es de importancia aclarar, que estos cambios neurobiológicos y comportamentales consecuentes al aislamiento social, se dan cuando éste es iniciado en el post-destete, pero no cuando los animales son aislados en la edad adulta (Geyer, Wilkinson, Humby & Robbins 1993 citados por Hellemans, 2004), confirmando que los períodos críticos y/o sensibles

para la expresión del síndrome del aislamiento social se restringen a la etapa de desarrollo temprano (Ladd et al., 2000 citados por Hellemans, 2004). Recientemente, un estudio realizado por Bassi et al., (2007) demostró que períodos breves (1 día) de aislamiento produjo un aumento significativo en el número y duración de vocalizaciones ultrasónicas emitidas como respuesta defensiva a la condición de aislamiento, las cuales fueron sensibles a ansiolíticos y revertidas por la resocialización, mientras que el aislamiento por dos semanas redujo el número y la duración de las mismas, las cuales no fueron revertidas por la resocialización. Según estos autores, el aislamiento social de un día recluta sistemas cerebrales defensivos distintos al aislamiento por dos semanas.

Anhedonia

Considerando la importancia del síntoma anhedónico en la depresión, que la sacarosa es un reforzador primario que forma parte del repertorio básico de cada individuo (en este caso la rata) (Hall et al., 1997) y, que el efecto positivo del reforzador sobre el organismo es innato y produce un estado de satisfacción (Juárez, 2007), el consumo de soluciones de sacarosa o de sacarina ha sido utilizado como medida del estado hedónico en ratas (Willner, Towell, Sampson Sophkleous & Muscat 1997 citados por Matthews et al., 2003). En este contexto, algunos estudios han evaluado el componente anhedónico utilizando la Prueba de Consumo de Sacarosa para la comprensión de los procesos neurobiológicos asociados a la depresión. Teniendo en cuenta que la mayoría de individuos puede ser clasificada entre los que les gustan (gustadores) o no les gustan (no gustadores) de dulces dependiendo de su respuesta hedonista (del placer), la anhedonia ha sido interpretada operacionalmente como un decrecimiento en la sensibilidad a recompensas, o sea, un decrecimiento del consumo de bajas concentraciones (0,1% y 2%) de sacarosa (Grønli et al., 2004; Willner, 2005). Sin embargo, en trabajos en los que se utilizan altas

concentraciones (32%), se ha reportado un incremento en el consumo, especialmente, de animales alojados individualmente; lo que también ha sido interpretado como baja sensibilidad a la recompensa (Sammut et al., 2002).

De esta manera, se ha demostrado que la exposición a estresores crónicos como la exposición prolongada a un período de tensión leve crónica, la separación maternal neonatal moderada y el alojamiento individual, produce una serie de alteraciones comportamentales (Fone, Shalders, Fox, Arthur & Marsden, 1996; Heidbreder et al., 2000; Lapiz, Mateo, Parker & Marsden 2000; Matthews et al., 2003; Muscat et al., 1992; Weiss et al., 2004), dentro de las cuales se puede mencionar una reducción en el consumo de soluciones de baja concentración de sacarosa (0.7%-5%) (Argyropoulos et al., 1997; Grippo et al., 2003; Hout et al., 2001; Muscat et al., 1992; Rygula et al., 2005; Willner, 1997) o un incremento de soluciones más concentradas (32%-34%) (Hall et al., 1997; Sammut et al., 2002).

Como se puede evidenciar, los resultados obtenidos de trabajos en esta línea no son muy claros, ya que desde el punto de vista operacional algunos estudios consideran la “anhedonia” como una disminución en el consumo de concentraciones menores de sacarosa (Grønli et al., 2004), mientras que otros la consideran como un aumento en el consumo de soluciones más concentradas (Hall et al., 1997; Sammut et al., 2002). Sin embargo, resultados más consistentes han sido mostrados por varios estudios que han utilizado una concentración del 1% de sacarosa (Andriamampandry et al., 2002; Grippo et al., 2004; Muscat, Papp & Willner, 1992; Rygula et al., 2005). Grippo et al., (2004) evaluaron el consumo de solución de sacarosa 1% en ratas sometidas a estrés crónico moderado durante 4 semanas y evidenciaron un menor consumo de esta solución en comparación con los animales controles, lo cual fue interpretado por los autores como un comportamiento anhedónico.

Algunos estudios han comprobado la eficacia de diferentes tipos de antidepresivos en revertir el perfil anhedónico en ratas. Considerando que el estrés y la depresión causan cambios estructurales en la formación hipocampal, Jayatissa, Bisgaard, West & Wiborg (2008) sometieron ratas a 2 semanas de estrés crónico moderado y evaluaron los cambios comportamentales relacionados con una disminución en la sensibilidad a la recompensa por medio del consumo de sacarosa, con el fin de determinar los cambios en el número total de células granulares del hipocampo. El estrés disminuyó en un 22,4% el número total de células granulares de las ratas. Esta disminución fue revertida por el tratamiento crónico con Escitaprolam, sugiriendo que el comportamiento de tipo-anhedónico está asociado con una reducción en el número de células granulares hipocampales, lo que puede ser revertido por el antidepresivo Escitaprolam. Igualmente en otro estudio la disminución generalizada de la sensibilidad a la recompensa (anhedonia) en las ratas causada por estrés crónico moderado fue revertida por el tratamiento durante 3 semanas con el antidepresivo imipramina en la dosis de 20mg/Kg/por día (Vale & Montgomery 1997). En conjunto estos estudios confirman la utilidad de la prueba de sacarosa para evaluar el síntoma anhedónico, definido operacionalmente como sensibilidad disminuida a la recompensa, el cual es revertido por antidepresivos.

Considerando que la glucosa es el combustible metabólico principal del cerebro (Benton et al., 2003), un punto fundamental a tener en cuenta en las investigaciones que se centran en la anhedonia es la alteración que ésta causa en 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; Wang et al., 2004). Por lo tanto, no es sorprendente que el factor de liberación de corticotropina (CRF) relacionado con el metabolismo de la glucosa se encuentre distribuido en grandes cantidades en algunas áreas cerebrales (región límbica) que intervienen en las enfermedades psiquiátricas (Strome et al., 2002) como por ejemplo en los pacientes con

desórdenes de pánico, los cuales demuestran estados altos de ansiedad y a su vez exhiben niveles perceptiblemente mas altos de glucosa en la amígdala, hipocampo, tálamo bilateral y cerebelo en comparación con los controles (Sakai et al., 2005).

Adicionalmente, algunos estudios han demostrado que la ingesta de comida se ve alterada en respuesta al consumo de sucrosa, manteniendo el consumo total de energía constante (Keating, Walker & Winn, 2002), negando la sugerencia de que las altas concentraciones de sucrosa causan desequilibrios en los mecanismos homeostáticos de las ratas (Ainge, Keating, Latimer & Winn, 2006). En una investigación realizada por Pazzagalli et al., (2004) con un grupo de personas con TDM, encontraron una disminución del metabolismo de la glucosa y a su vez un actividad reducida en la corteza prefrontal subgenual, sugiriendo que estas disfunciones se pueden asociar a una respuesta hedonista y a una sensibilidad exagerada de la tensión. De igual forma, en un estudio realizado por Kennedy et al. (2001), encontraron en pacientes deprimidos una actividad hipometabólica en algunas partes del área frontal y a su vez hipermetabolismo en ciertas regiones límbicas e hipocampales, que fueron revertidas por el tratamiento con paroxetina durante seis semanas, encontrando después de la terapia un aumento de la actividad metabólica prefrontal y reducción en la actividad metabólica hipocampal y parahipocampal derecha. A su vez se han encontrado cambios en la actividad metabólica asociados a la remisión con tratamiento o durante el tratamiento con fluoxetina.

Por otro lado, un estado hiperglicémico puede, adicionalmente, dar soporte acerca de un contexto de aprendizaje en el cual los estímulos aversivos están presentes. En esta línea, ha sido propuesto que la memoria emocional puede ser facilitada por la presencia de estresores que inducen a una activación simpática, no solo por el incremento de oxígeno suministrado al sistema nervioso central, sino también por un nivel hiperglicémico, que proporciona un substrato

metabólico para los cambios celulares subyacentes a los procesos de plasticidad nerviosa (Ghizoni et al., 2006; McGaugh, 1989).

Dentro de los efectos del consumo de glucosa que podemos encontrar están, que muchas tareas son facilitadas por la glucosa en los humanos, de manera que las tareas que son difíciles de manejar o que involucren atención dividida se mejoran más prontamente que las tareas más sencillas (Messier, 2004). Adicionalmente, se sabe que la potenciación mnemónica inducida por la glucosa que sería modulada por mecanismos colinérgicos (Lalumire, Nguyen & McGaugh, 2004).

Según Messier (2004), el mejoramiento de la memoria como efecto de la glucosa fue originalmente descubierto por Lapp (1981) en unos jóvenes de una escuela secundaria. Por otra parte, estudios iniciales en animales demostraron que la ingestión post - entrenamiento de comida, soluciones de glucosa o la inyección de glucosa pudo retroactivamente y no-contingentemente mejorar la memoria para un aprendizaje asociativo (Messier, 2004). Así, las soluciones de glucosa son reforzadores no solo porque bebiéndolos pueden ser agradables desde el punto de vista apetitivo, sino que también favorecen los procesos de memoria. Además, en un estudio en el que compararon los efectos de beber agua, sacarina y soluciones de glucosa encontraron que la sacarina refuerza la memoria comparada con agua. Otra alternativa es que la intensa estimulación del gusto producido por las soluciones concentradas de sacarina puede activar regiones del cerebro que modulan el proceso de memoria (Messier, 2004).

En conformidad con el probado supuesto de que el cerebro utiliza la glucosa casi exclusivamente como su combustible básico (Parker & Benton, 1995), en investigaciones anteriormente realizadas, se ha encontrado que los niveles periféricos de glicemia aumentado por la ingestión de una bebida que contiene glucosa potencia el funcionamiento cognoscitivo, lo que se fundamenta en el hecho de que éste es mejorado por la disponibilidad creciente de la glucosa

en la sangre (Riby, Meikle & Glover, 2004). Esto plantea la cuestión del grado al cual el funcionamiento cognoscitivo se puede mediar por la disposición de la glucosa al cerebro (Benton, Parker & Donohoe, 1996).

Sin embargo, algunos procesos cognitivos no siempre son potenciados por glucosa, como es el caso de los diferentes tipos de memoria. El desempeño en tareas de recuerdo libre verbal a largo plazo, se correlaciona significativamente con los niveles de glucosa sanguínea, donde se evidencia el efecto de facilitación de la memoria por la glucosa, mientras que las tareas de la memoria a corto plazo y las tareas de la memoria no-verbal aparecen menos susceptibles a este efecto (Foster, Lider & Sünran, 1998). Estos resultados son consistentes con la idea que la glucosa afecta específicamente la región hipocampal del cerebro, que se conoce está asociada al procesamiento de la memoria episódica a largo plazo (Winocur, 1995). Hasta la fecha, sin embargo, los mecanismos exactos responsables del efecto de la glucosa siguen siendo confusos. De hecho, Scholey et al., (2001) sugieren que los efectos beneficiosos de la glucosa puedan ser dependientes de la tarea demandante, de manera que solo tareas suficientemente exigentes pueden ser susceptibles a la facilitación; por esto Fairclough y Houston (2004) sugirieron el índice de glucosa sanguínea como una medida fuerte de la demanda cognoscitiva.

Consecuente con la investigación anterior, fue predicho que la especificidad de la glucosa como potenciador de procesos mnemónicos depende de la eficiencia metabólica de cada individuo. Según Meikle, Riby y Stollery, (2004), aquellos con una buena Rygulación de la glucosa se desempeñaran mejor que individuos con la Rygulación pobre de la misma, particularmente bajo condiciones altamente exigentes desde el punto de vista cognitivo. En la misma dirección, Meikle et al. (2004) realizaron un estudio en el cual suministraron glucosa a adultos jóvenes y adultos mayores y, posteriormente, se evaluó la memoria con una batería de

memoria y de tareas de no-memoria, encontrando que la ingestión de glucosa (25g) facilitó en gran parte el funcionamiento en tareas con componente mnemónico en adultos mayores.

Entre otros efectos, se ha encontrado una buena evidencia en la literatura de que la glucosa se puede incorporar en las neuronas inicialmente cruzando las células endoteliales y la barrera hematoencefálica, a través de una proteína del transportador de la glucosa GLUT1 (McEwen & Reagan, 2004; Pardridge, Boado & Farrell, 1990). Una vez en el parénquima cerebral, la glucosa se puede transportar en las neuronas a través de un transportador de la glucosa GLUT3 (McEwen et al., 2004). En este sentido, se ha demostrado, recientemente, que la expresión de GLUT1 es plástica y puede cambiar según la demanda metabólica celular, así como en la corteza sensorio motora; el GLUT1 también se nivela aumentado inmediatamente después del aprendizaje (Choeiri, Staines, Miki, Seino & Messier, 2005). Así, esta expresión plástica de los transportadores GLUT1 en hipocampo puede proporcionar el suplemento de la glucosa para los procesos de aprendizaje que implican tareas hipocampo-dependientes (Ghizoni et al., 2006). Por otra parte en estudios de diversas patologías, con tomografía por emisión de positrones, han encontrado que el índice metabólico de la glucosa es significativamente menor en la circunvolución cingular posterior y en la circunvolución cingular dorsal anterior, en pacientes trastorno obsesivo compulsivo (Saxena et al., 2004).

Por otro lado, otros estudios han encontrado que el consumo por un período relativamente largo de sacarosa puede además de facilitar algunos procesos cognitivos, producir analgesia en ratas (Segato, Castro, Segato, Morato & Coimbra, 1997). Sin embargo, se ha encontrado que alimentos apetitosos estimulan los circuitos relacionados con los procesos de adicción a las drogas, pues al retirarles el azúcar después de un período de acceso intermitente, se puede encontrar síntomas similares a los de abstinencia como en los casos de retirada de morfina o de la nicotina, sugiriendo que las ratas pudieron llegar a ser azúcar-dependiente, o sea, que el azúcar

puede ser adictiva (Avena, Bocarsly, Rada, Kim & Hoebel 2008), por producir cambios comportamentales y neuroquímicos que se asemejan a los efectos producidos por las *sustancias de abuso*. Efectivamente, según Colantuoni et al. (2002), dentro de los cambios en el comportamiento de ratas consecuentes a la retirada azúcar se encuentran la ansiedad determinada por la reducción de tiempo en el brazo abierto del LCE, rechine de dientes y temblor de las patas delanteras, además de cambios neuroquímicos como una disminución en la liberación de dopamina en el núcleo accumbens asociada con un aumento en la liberación de la acetilcolina.

Efectivamente, algunas investigaciones farmacológicas han demostrado que la dopamina está implicada en la modulación de los efectos reforzadores de la sucrosa. Como por ejemplo, el consumo de concentraciones bajas de la sucrosa es reducido por los antagonistas de receptores dopaminérgicos en ratas (Hall et al., 1997) en modelos de ECM, observándose un consumo disminuido de sucrosa en ratas, el cual se correlaciona con los cambios observados en el comportamiento y fisiología del animal (Grønli et al., 2004).

En conclusión, el efecto de glucosa en la cognición y otros procesos neurobiológicos dependen de las consecuencias fisiológicas de la ingestión, de la cantidad de glucosa consumida y del valor apetitivo (gusto) de la misma, los cuales pueden intervenir en los procesos cognitivos-emocionales.

Modelos animales de ansiedad

Diversos modelos experimentales han sido desarrollados para auxiliar el estudio de los comportamientos y sustratos neurales implicados en el estado de ansiedad, así como para el desarrollo de estrategias terapéuticas. Comúnmente, dichos modelos son utilizados para el desarrollo de nuevos fármacos con potencial terapéutico para investigar los mecanismos de acción de las drogas, así como la fisiopatología de los trastornos de ansiedad. Cabe resaltar que,

independientemente de la diversidad, hasta hace un poco más de una década, el valor de los modelos de ansiedad dependía de la capacidad de éstos de detectar los efectos ansiolíticos de las benzodiazepinas (Winslow & Insel, 1991). No obstante, los modelos que detectan con éxito dichos efectos, muchas veces fallan al detectar la acción ansiolítica de otros fármacos con potencial efecto ansiolítico como por ejemplo, los que actúan sobre el sistema serotoninérgico (Borsoni, Podhorna & Marazziti, 2002; Pellow, Chopin, File & Braley, 1985).

El hecho concreto de que cada desorden de ansiedad está asociada a un sistema neurobiológico particular, conlleva a la conclusión que los modelos animales deben simular desórdenes de ansiedad específicos. Por lo tanto, se espera que un determinado modelo tenga un perfil farmacológico que correlacione con la respuesta clínica de la droga efectiva en el desorden que se pretende simular (Pinheiro, Zangrossil-Jr, Del-Ben & Graeff, 2007).

Los modelos animales de ansiedad usados originalmente, fueron desarrollados con base en los paradigmas de la Psicología Experimental de los años 50 y 60, antes de que la clasificación moderna de desórdenes psiquiátricos hubiese dividido los desórdenes de ansiedad en diversas categorías de diagnóstico. Por consiguiente, estos modelos animales refieren a ansiedad normal y patológica, en general (Pinheiro, 2007). Sin embargo, estos modelos fueron bastante criticados por involucrar variables como entrenamiento prolongado, esquemas de reforzamiento y castigo, privación de comida o agua, además de la manipulación prolongada de los mismos (Becerra et al. 2007).

De manera general los modelos animales convencionales de ansiedad para fármacos ansiolíticos se basan en respuestas comportamentales condicionadas (Chopin & Briley, 1987; Vogel, Beer & Clody 1971), incondicionadas o en condiciones ambientales potencialmente aversivas y relativamente artificiales (Crawley, 1981; Hofer, Masmela, Brunelli & Shair, 1999; Pellow et al., 1985). Los esfuerzos científicos recientes hacen énfasis en modelos con

sustentación evolutiva-comportamental, con validación fisiológica, farmacológica y comportamental. Se basan en la respuesta natural de la especie (Blanchard, Blanchard & Rodgers, 1991) presentando la ventaja de no necesitar de manipulaciones del comportamiento apetitivo, ni de cualquier entrenamiento o presentación programada de estímulos nocivos al animal. Entre estos, está el modelo de Campo Abierto, el cual consiste en poner el animal en el centro de una arena iluminada y registrar la actividad locomotora, el porcentaje de tiempo en gasto el área central y defecación, los cuales son considerados como indicadores de ansiedad (Prut & Belzung, 2003) y el Laberinto en Cruz Elevado (Handley & Mithani, 1984; Pellow et al., 1985), entre otros.

El Laberinto en Cruz Elevado (LCE) es una de las aproximaciones experimentales más utilizadas como modelo animal de ansiedad generalizada durante los últimos 20 años (Carobrez & Bertoglio, 2005). Fue inspirado en el relato de Montgomery (1955), quien usó un laberinto en Y elevado para investigar el comportamiento exploratorio de ratas, demostrando que los animales exploraban más los brazos cerrados por paredes que los brazos abiertos. Este modelo es un aparato en el cual los animales pueden explorar libremente dos brazos abiertos y dos brazos cerrados por paredes. Fue empleado, inicialmente, por Handley y Mithani (1984) y en seguida ampliamente validado desde el punto de vista farmacológico, bioquímico y comportamental como prueba de ansiedad en ratas y ratones (Pellow et al., 1985; Lister, 1987; respectivamente), mostrando ser una herramienta válida y confiable para medir ansiedad.

Consiste en la utilización de estímulos aversivos naturales como los espacios abiertos, la luminosidad (Picazo & Roldán, 1996) y ambiente nuevo (Becerra, Parra & Morato, 2005). En este sentido, su funcionalidad como modelo animal de ansiedad, se basa en la actividad exploratoria espontánea y en la aversión natural del animal por los lugares abiertos (Conde, Ayala, Botelho, Berena & Velásquez 2001; Scheafer et al., 2000). Coherente con el miedo natural

de los roedores a lugares abiertos y elevados, las ratas entran menos y permanecen por un tiempo más corto en los brazos abiertos (BA) con respecto a los brazos cerrados (BC) cuando se les permite explorar libremente el laberinto (Pinheiro et al., 2007). Por lo tanto, el menor número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos en comparación con los brazos cerrados es utilizado como medida operacional de la ansiedad (Morato et al., 1997), así como la disminución general de la locomoción en el laberinto, la cual es definida operacionalmente como el número total de entradas a los brazos abiertos y cerrados (Weissl et al., 2004).

El comportamiento natural del animal, por lo tanto, favorece la exploración de los brazos cerrados y esta tendencia es aumentada por fármacos ansiogénicos (File 1991 & 1992; Handley & Mithani, 1984). Por el contrario, fármacos ansiolíticos clásicos como el diazepam, reducen la aversión natural a los brazos abiertos favoreciendo la exploración de los mismos.

Una variedad de factores alteran el comportamiento de las ratas en este modelo, entre ellos la existencia de bordes de acrílico en los brazos abiertos parece afectar la sensibilidad ansiolítica en la primera y segunda exposición (Fernández & File 1996); así como la utilización de diferentes especies (Hogg, 1996) y la tigmotaxia (Treit, Menard & Royan, 1993), una respuesta de defensa del animal que lo lleva a permanecer próximo a superficies verticales, probablemente para dificultar la captura de predadores (Treit & Fundytus, 1989). Sin embargo, en la actualidad se ha demostrado que uno de los principales disparadores del perfil ansiogénico en el LCE es de naturaleza visual (Becerra et al., 2005).

Entre los estudios que utilizan el LCE, se ha demostrado que una sola exposición al mismo puede modular comportamiento ansioso (File, Gonzalez & Gallant, 1998; Treit et al., 1993) pues los comportamientos de evitación a los brazos abiertos, aumentan cuando se someten las ratas a una segunda exposición, vista por estos autores como una respuesta fóbica

condicionada (File et al., 1998; Treit et al., 1993; Vyas & Chattarji, 2004; Zangrossi & File, 1992) o como un aprendizaje emocional (Ghizoni et al., 2006).

Como lo mencionado anteriormente, el LCE es una de las aproximaciones experimentales más utilizadas como modelo de ansiedad (Carobrez et al., 2005) y diferentes manipulaciones han sido usadas para inducir comportamientos de tipo “ansiedad” en este modelo (Borta & Schwarting, 2005; Botelho, Estanislao & Morato, 2007). Específicamente, varios estudios han sido realizados para evaluar los mecanismos fisiológicos asociados a la ansiedad (Kunth & Etgen, 2007; Weiss et al., 2004). 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 hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA). Según estos autores, el aislamiento social crónico aumenta la reactividad emocional al estrés y produce hiperfunción del eje HPA

En un estudio más reciente, Kunth y Etgen (2007) examinaron los efectos de aislamiento social durante una hora diaria, iniciado después del cuarto día postnatal sobre el comportamiento y respuestas endocrinas evaluadas también en el modelo del Campo Abierto y LCE. A diferencia del estudio anterior realizado por Weiss et al. (2004), los animales sometidos al aislamiento social presentaron un perfil ansiogénico tanto en el modelo del Campo Abierto como en el LCE. Sin embargo, en este estudio, no se encontró efectos en los niveles básicos de las hormonas adrenocorticotróficas o de corticosterona, sugiriendo, según los autores, que el aislamiento neonatal puede producir comportamiento ansioso, sin alterar las funciones del HPA.

Resocialización

De manera general, el perfil ansiogénico generado por el aislamiento social en el laberinto en cruz elevado es revertido por el tratamiento agudo con midazolam o por resocialización (Maisonnette, Morato & Brandão, 1993). Sin embargo, aunque que muchos estudios han comprobado la eficacia de los diferentes tipos de antidepresivos en revertir el perfil anhedónico, no se ha encontrado en la literatura ninguna evidencia de que la resocialización puede producir lo mismo. Considerando que las interacciones sociales establecidas entre animales mantenidos en grupo pueden proporcionar un ambiente enriquecido debido a la facilitación social promovida por el mismo (Genaro, Schmidek & Franci, 2004), el presente trabajo pretendió explorar también el efecto de la resocialización sobre el consumo de sacarosa, con el fin de evaluar la utilidad de este procedimiento para revertir el perfil anhedónico de las ratas alojadas individualmente con miras a aportar a la comprensión de los posibles mecanismos asociados al comportamiento anhedónico.

Desde el punto de vista comportamental, los resultados de un número pequeño de estudios que utilizaron la resocialización indican que muchos, pero no todos, los efectos del comportamiento de ratas aisladas se pueden revertir, así como también se puede prevenir los disturbios del comportamiento emocional de ratas adultas previamente re-socializadas (Imanaka et al., 2008). Como por ejemplo, la hiperactividad y el aumento de la latencia de retirada de la cola en el modelo *Tail Flick* de ratas alojadas individualmente fueron revertidos por un período de resocialización (Gentsch, Lichtsteiner, Frischknecht, Feer & Siegfried, 1988). Por otra parte, se han mostrado que el aislamiento por el período de tiempo breve (un día) causa aumento en la aversión a los brazos abiertos en la prueba del LCE, y que este comportamiento fue revertido por la resocialización de 1 semana en un estudio realizado por Bassi et al., (2007). No obstante, los resultados de resocialización no son constantes, pues en un estudio realizado por Wright et al.

1991, no se pudo revertir el perfil ansiogénico producido por el aislamiento social, aunque pudo ser por el tipo de paradigma utilizado, el cual puede inducir diferentes tipo de ansiedad (Vale et al., 1997). De igual forma, en otro estudio encontraron que el déficit del comportamiento persiste después de la resocialización (Hellemans et al., 2004).

Por lo tanto, según Hellemans y sus colaboradores (2004), la diferencia de resultados antes mencionada puede estar asociada a diferencias metodológicas tales como, género y tensión, duración del aislamiento, edad de los animales, el número de ratas que se mantienen en resocialización, así como el tiempo que dura la resocialización.

Considerando la complejidad que involucra la neurobiología y sintomatología de la depresión, la poca claridad que se ha encontrado en la literatura con respecto a la definición operacional de anhedonia y la comorbilidad existente entre depresión y la ansiedad, el actual trabajo de investigación centró su objetivo principal en evaluar la preferencia por el consumo de diferentes concentraciones de sacarosa como indicador del perfil anhedónico y el comportamiento de “tipo ansioso” en el Laberinto en Cruz Elevado, además de la posible disminución de los efectos o déficit provocados por el aislamiento, después de un período de resocialización (ratas agrupadas).

Materiales y Método

Diseño

Para la presente investigación se utilizó un diseño experimental de tipo explicativo donde se buscó evaluar los efectos del alojamiento individual crónico (variable independiente) sobre las manifestaciones comportamentales de tipo “depresión-ansiedad” en ratas, tomando como indicadores comportamentales la preferencia por el consumo de diferentes soluciones de sacarosa y manifestaciones de “tipo ansioso” (variables dependientes), los cuales se evaluaron con la prueba de consumo de sacarosa y en el modelo del Laberinto en Cruz Elevado, respectivamente.

Animales

Se utilizaron 96 ratas Wistar machos provenientes del biotério de la Universidad Industrial de Santander con un peso aproximado de 192 a 242 gramos (gr.). Los sujetos fueron manipulados de acuerdo a los criterios éticos de experimentación animal (Ley 84 de diciembre de 1989, artículo 23; Resolución N° 8430 de 1993, artículo 87). Antes de cualquier manipulación, los animales pasaron por un período de habituación de 6 días en el biotério de la Universidad Pontificia Bolivariana (UPB) alojados en grupos de seis por caja (considerando que el período mínimo de habituación comúnmente utilizado en diferentes laboratorios experimentales es de 3 días). Los animales fueron sometidos a las condiciones experimentales de alojamiento (aislamiento social o alojamiento en grupos) 21 días antes de la primera sesión experimental. En el biotério se mantuvo un esquema de luminosidad controlada (ciclo de 12 horas claro/oscuras; luces prendidas a las 7:00 A.M.), y una temperatura ambiente de 22°. Durante su permanencia en el laboratorio, las ratas tuvieron acceso libre a comida y agua. Los animales fueron manipulados

únicamente según las necesidades de suministro de comida y aseo cotidiano. Todas las sesiones experimentales fueron conducidas en la fase clara del ciclo entre 1:00 a 5:00 P.M.

Instrumentos

Cajas de acrílico (23 x 23 x 34 cm). Estas cajas fueron utilizadas durante todo el procedimiento experimental para el alojamiento individual de los animales (grupo de animales alojados individualmente) (Anexo 1).

Cajas de acero inoxidable (40 x 33 x 16 cm.). Estas cajas fueron utilizadas para el mantenimiento de todos los animales (6 por jaula) durante el período de habituación (6 días) a las condiciones del laboratorio y también para el alojamiento de los animales controles (grupo de animales alojados en grupo) (Anexo 2).

Prueba de Consumo de Sacarosa (Anexo 3). En esta prueba, la responsividad de ratas a la recompensa es medida por la preferencia por soluciones apetitivas de sacarosa o agua pura (Willner et al., 1987). En el caso particular del presente estudio, los animales fueron expuestos a diferentes concentraciones de sacarosa (4%, 8%, 16% y 32 %) y agua pura durante 60 minutos en una sala experimental, sin previa privación de comida. La selección de dichas concentraciones fue realizada con base en trabajos anteriores (Hall et al., 1997; GrØnli et al, 2004; Sammut et al., 2002) y utilizando una escala logarítmica de base dos para hacer una exploración dosis-efecto. El consumo fue medido considerando el peso (gr) del bebedero antes y después de la hora de evaluación del consumo. Terminada la hora experimental, cada animal fue trasladado a la sala vivero. Los animales fueron expuestos a esta prueba de consumo de sacarosa en tres momentos

diferentes. La primera exposición se tituló Fase 1 (**F1**). La segunda exposición se tituló fase de Memoria (**M**), considerando que el animal ya había experimentado en la primera exposición las diferentes concentraciones de sacarosa. La última exposición se tituló fase de resocialización (**R**), ya que los animales habían sido re-socializados después de terminada la fase de memoria. En cada fase los animales fueron expuestos a la prueba de consumo de sacarosa durante 4 días consecutivos.

Laberinto en Cruz Elevado (Anexo 4). Este modelo es constituido por dos brazos abiertos (50 x 12 cm) con bordes laterales de acrílico de 1 cm. de altura y dos brazos cerrados (50 x 12 x 40 cm.) colocados de tal manera que los brazos abiertos y cerrados están dispuestos perpendicularmente y en cruz, suspendidos a una altura de 50 cm. del piso. Su funcionalidad, se basa en la actividad exploratoria espontánea y en una aversión natural del animal a los brazos abiertos. En el inicio de cada sesión cada rata debe ser colocada en el cuadrado central de LCE (parte central) con la cabeza dirigida hacia un brazo cerrado, y se les permite explorar libremente el modelo por 5 minutos. Todas las secciones son visualizadas desde afuera de la sala experimental por un circuito interno de televisión y se grabaron en un sistema de VHS para el procesamiento de los parámetros evaluados. En el presente estudio, a partir de la reproducción de la película de los experimentos, sobre una máscara transparente puesta sobre la pantalla del televisor, el LCE fue dividido, para efecto de análisis, en cuadrados virtuales, de manera que al brazo abierto le correspondió los lugares 5, 6 y 7, al centro el lugar 4 y el brazo cerrado los lugares 1, 2 y 3. Utilizando un programa de registro y procesamiento de comportamientos PROSTCOM (Conde, Costa & Tomaz, 2000) se registró las entradas y tiempo de permanencia en diferentes lugares del LCE, así como el total de cruzamientos (número total de cuadrados atravesados). La disminución de frecuencia de entradas y tiempo de permanencia en los brazos

abiertos del laberinto (lugares 5, 6 y 7) se utilizaron como indicadores de comportamiento de “tipo ansioso” (File, 1992; Pellow et al., 1985). En todos los casos, al final de la exposición de cada animal se limpió el LCE con una solución 10% de alcohol.

Círculo Cerrado de Televisión (Anexo 5). Este instrumento se utilizó con el propósito de filmar en un sistema de VHS cada una de las sesiones experimentales, para posterior análisis comportamental.

El Programa de Registro (PROSTCOM). Este es un programa de computación que permite realizar registro simultáneo del comportamiento de los animales durante la exposición al modelo animal, para posterior procesamiento y análisis de los resultados (Conde et al., 2000).

Procedimiento

La investigación se desarrolló en tres fases distribuidas de la siguiente manera:

1. Inicio del aislamiento, establecimiento de línea base y prueba de consumo de sacarosa (1ª exposición, **F1**).
2. Prueba de consumo de sacarosa (2ª exposición, **M**) y exposición al Laberinto en Cruz Elevado.
3. Resocialización y prueba de consumo de sacarosa (última exposición, **R**).

Fase 1: Inicio del aislamiento, establecimiento de línea base y prueba de consumo de sacarosa (1ª exposición, F1).

Una vez terminado el período de 6 días de habituación a las condiciones del laboratorio, a todos los animales se les hizo, inicialmente, una primera toma de glucosa y se procedió con la distribución de los animales según el esquema de alojamiento. Una parte de los animales fue alojada individualmente en cajas de acrílico, y la otra se mantuvo agrupada (6 por caja) en cajas de acero inoxidable durante un período de veintiún días antes de iniciar la primera exposición a la prueba de consumo (Tabla 1). Estos animales fueron mantenidos alojados de esta manera hasta la sesión de exposición al modelo del LCE, fin de la cual todos los animales fueron re-socializados (las ratas que habían estado agrupadas fueron alojadas individualmente y las que habían estado alojadas individualmente fueron agrupadas).

Tabla 1. Distribución de grupos de animales según esquema de alojamiento continuo durante 21 días.

Grupo	Número de animales por caja	Esquema de alojamiento
A	6 (n=48)	Agrupados en caja de acero inoxidable
B	1 (n=48)	Alojados individualmente en caja de acrílico transparente

En el decimoctavo día de alojamiento los animales fueron privados de comida por doce horas en la fase oscura del ciclo (19:00 a 07:00), final de la cual se les realizó la segunda toma de

glucosa y pesaje de cada una de las ratas. La privación tenía como objetivo evitar que los niveles de glucosa estuvieran elevados como consecuencia del consumo nocturno de alimento, de manera que en caso de que hubiera algún animal diabético se descartaría del estudio de inmediato. Los animales se mantuvieron en las mismas condiciones de alojamiento y en el 19º día se inició el procedimiento de línea base, donde los animales tuvieron acceso a un bebedero que contenía una solución de sacarosa (0.7%) por un período de 3 días durante 13 horas diarias (19: 00 de la noche a 8:00 de la mañana). Este procedimiento fue realizado con el fin de habituar los animales al consumo de sacarosa y evitar una posible Neofobia (Hall et al. 1997). Los bebederos que se utilizaron fueron los mismos donde los animales consumieron el agua pura a diario.

Terminado el período de tres días de línea base, o sea, a los veintidós días de aislamiento los animales fueron sometidos a la Prueba de Consumo de Sacarosa donde se midió la preferencia por 4 diferentes soluciones de sacarosa (4%, 8%, 16%, y 32%) durante cuatro días consecutivos. Para ello, los animales fueron trasladados a la sala experimental y mantenidos durante un período de 1 hora en una caja de acrílico (igual que la caja de alojamiento individual) donde tuvieron acceso a un bebedero con agua pura y otro con una de las diferentes soluciones de sacarosa (siempre ubicados los bebederos con la solución al mismo lado de la caja). El porcentaje de la solución fue el mismo para cada grupo de ratas durante toda la prueba. La medida del consumo durante la hora de experimentación se efectuó simultáneamente con 6 animales (3 del grupo alojado individualmente y 3 del alojado en grupo) para que durante cada hora de evolución se tuviera representatividad de ambos grupos experimentales. Adicionalmente, con el fin de evitar que todos los días se midiera el consumo de cada grupo de ratas a la misma hora, se hizo una distribución de horarios donde se garantizó la evaluación de cada grupo en horarios diferentes. Para la medición del consumo, se pesó cada bebedero al inicio y al final de la hora estipulada de

experimentación y, una vez finalizada, cada animal fue retornado a su respectiva caja vivero, con libre acceso a comida y agua.

Fase 2: Prueba de consumo de sacarosa (2ª exposición, M) y exposición al Laberinto en Cruz Elevado.

Terminado el período anterior de evaluación del consumo de las 4 diferentes soluciones de sacarosa, los animales descansaron durante 4 días, período en el cual se mantuvieron en las mismas condiciones de alojamiento (alojamiento individual o en grupo), pero sin ninguna manipulación experimental. Al final de los 4 días de descanso los animales fueron sometidos nuevamente a la prueba de consumo de sacarosa siguiendo el mismo protocolo descrito en la fase 1. Al final de los 4 días consecutivos de evaluación del consumo, cada rata fue expuesta al LCE, inmediatamente después de la prueba de consumo. La prueba consistió en colocar al animal en el centro del laberinto, con la cabeza en dirección hacia uno de los dos brazos cerrados, permitiéndole al animal la exploración libre por cinco minutos, durante los cuales se registraron la frecuencia de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos (lugares 5, 6 y 7) y cerrados (1, 2 y 3). Cada sesión estuvo monitorizada por un circuito interno de televisión y grabada en cintas de VHS para el posterior análisis comportamental utilizando el programa computacional (PROSTCOM) elaborado para tal fin. La disminución de frecuencia de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos (lugares 5, 6 y 7) del laberinto fue utilizada como indicador de comportamiento de “tipo ansioso” (File, 1992; Pellow et al., 1985). Inmediatamente después de terminada la exposición de los animales al LCE, a cada animal se le realizó la tercera toma de glicemia.

Fase 3: Resocialización y prueba de consumo de sacarosa (3ª exposición, R).

Terminado el procedimiento anterior, se re-socializaron las ratas, o sea que las que habían estado agrupadas fueron alojadas individualmente y las ratas que habían estado alojadas individualmente fueron agrupadas, permaneciendo de tal forma, hasta el término del protocolo experimental. Posterior a 72 horas de resocialización (3 días) las ratas fueron expuestas, finalmente, a la tercera y última prueba de consumo de sacarosa de acuerdo al procedimiento utilizado anteriormente durante cuatro días consecutivos, finalizando así el experimento.

Análisis de datos

Para evaluación durante 4 días, período **en el cual se mantuvieron** en las mismas condiciones de alojamiento (alojamiento individual o en grupo), pero sin ninguna manipulación experimental. Al final de los 4 días de descanso los animales fueron sometidos nuevamente a la prueba de consumo de sacarosa siguiendo el mismo protocolo descrito en la fase 1. Al final de los 4 días consecutivos de evaluación del consumo, cada rata fue expuesta al LCE, **inmediatamente** después de la prueba de consumo. La **prueba consistió en colocar a sobre el consumo** se utilizó un ANOVA de dos factores para medidas repetidas, seguida de la prueba Student-Newman-Keuls para comparaciones múltiples. Los factores considerados fueron: tratamiento (aislamiento social (A) o en grupo (G) de acuerdo con en las diferentes concentraciones consumidas, es decir, A4%, A8%, A16%, A32%, G4%, G8%, G16%, G32) y sesión experimental (F1, M y R). Con este análisis también se evaluó el efecto de la resocialización sobre la preferencia por el consumo de las diferentes concentraciones de sacarosa.

te después de la prueba de consumo. La **prueba consistió en colocar a sobre el consumo** se utilizó un ANOVA de dos factores para medidas repetidas, seguida de la prueba Student-

Newman-Keuls para comparaciones múltiples. Los factores considerados fueron: tratamiento (aislamiento social (A) o en grupo (G) de acuerdo con en las diferentes concentraciones consumidas, es decir, A4%, A8%, A16%, A32%, G4%, G8%, G16%, G32) y sesión experimental (F1, M y R). Con este análisis también se evaluó el efecto de la resocialización sobre la preferencia por el consumo de las diferentes concentraciones de sacarosa.

Por otro lado, para evaluar los efectos del aislamiento social crónico sobre el comportamiento de tipo ansioso en el LCE y sobre los niveles de glicemia de los animales post LCE se utilizó una ANOVA de dos factores, seguido de la prueba *t* de Bonferroni para comparaciones múltiples. Los factores considerados para ambos análisis fueron: tipo de alojamiento (aislamiento social o en grupo) y tratamiento (diferentes concentraciones de sacarosa: 4%, 8%, 16% o 32%).

Para comparar el consumo en gramos de sacarosa en el último día de la fase de memoria (10 minutos antes de exponer cada rata al LCE) entre las ratas agrupadas y aisladas socialmente se utilizó una prueba *t* no paramétrica (Mann-Whitney Rank Sum Test) para muestras independientes.

Finalmente, para correlacionar el promedio de consumo (ml) de diferentes concentraciones de sacarosa en las diferentes fases de la prueba (F1, M y R), la cantidad en gramos de sacarosa por volumen de solución consumida **en las diferentes fases de la prueba** y los niveles de glicemia posterior a la exposición al LCE con el comportamiento de las ratas en este modelo, se utilizó el análisis de correlación de Spearman. El mismo análisis de correlación también fue utilizado para correlacionar el consumo en gramos de sacarosa en el último día de consumo en la fase de memoria (10 minutos antes de exponer cada rata al LCE) con los niveles de glicemia post exposición en el LCE. Para todos los análisis se asumió una $p < 0,05$.

Resultados

Consumo de sacarosa vs agua (Figura 1). El análisis de varianza realizado para comparar la diferencia entre el consumo de sacarosa y agua de los animales reveló que hubo diferencias atribuibles al tipo de alojamiento (aislamiento social y agrupado) ($F_{[1,282]} = 41,536$; $p < 0,001$) y a las fases de evaluación del consumo (F1, M, R) ($F_{[2,282]} = 10,468$; $p < 0,001$) y que hubo interacción entre los dos factores ($F_{[2,140]} = 7,323$; $p < 0,001$). De manera general, la prueba t de Bonferroni para comparaciones múltiples reveló que la diferencia entre el consumo de sacarosa y agua pura fue mayor para los animales aislados socialmente que para los animales alojados en grupo ($t = 6,445$). Adicionalmente reveló que entre los animales aislados en la fase de memoria la diferencia fue mayor que en las fases 1 y de resocialización ($t = 4,868$ y $t = 3,655$, respectivamente). Finalmente, el análisis mostró que la diferencia de consumo fue mayor para los animales aislados solamente en la fase 1 ($t = 3,226$) y memoria ($t = 6,640$), no encontrando diferencia estadísticamente significativa en cuanto al consumo en la fase de resocialización ($t = 1,296$). En conjunto estos resultados sugieren que existe preferencia por el consumo de sacarosa, especialmente para el grupo de animales aislados socialmente y que dicha preferencia se ve acentuada en la fase de memoria cuando los animales ya habían consumido la solución de sacarosa en la primera exposición al consumo en la fase 1.

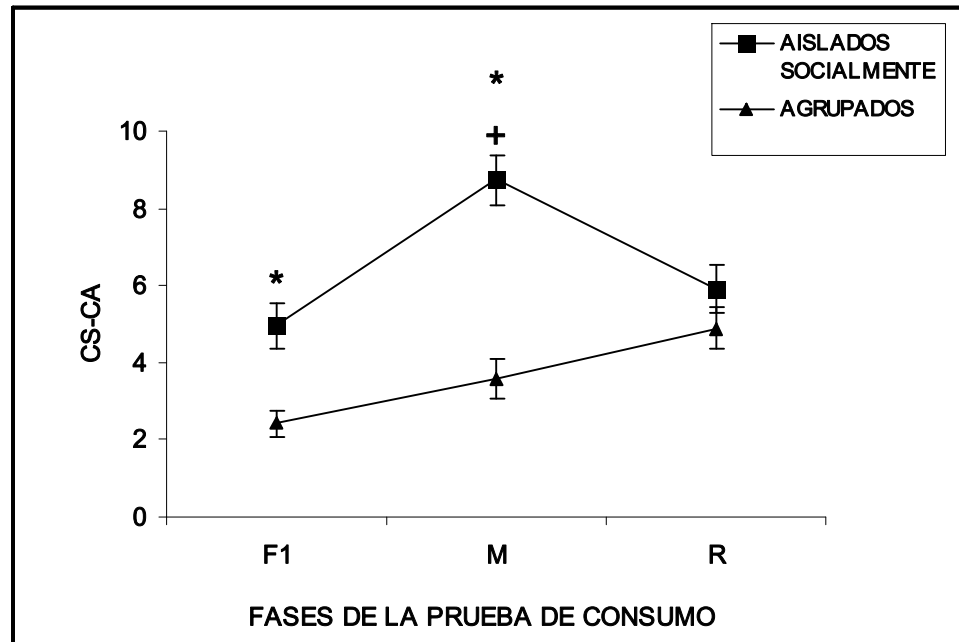


Figura 1. Diferencia entre el consumo sacarosa (CS) y consumo de agua pura (CA). **F1**, primera exposición a la prueba de sacarosa; **M**, segunda exposición a la prueba de sacarosa; **R**, tercera exposición a la prueba de sacarosa. *, Diferente del grupo de animales alojados en grupo. +, Diferente del las fases F1 y R (*t* de Bonferroni; $p < 0,05$).

Consumo de solución de sacarosa (Figura 2). El análisis de varianza de dos vías para medidas repetidas reveló que los grupos variaron según el tratamiento ($F[7,140] = 4,441$; $p < 0,001$), la sesión ($F[2, 140] = 14, 395$; $p < 0,001$) y que hubo interacción entre los dos factores ($F[14, 140] = 2,924$; $p < 0,001$). La prueba Student-Newman-Keuls reveló que durante la F1 del experimento, las ratas de los grupos A8% consumieron más de la solución que las del grupo G8 y G32%. Dentro de la fase M los animales de los grupos A4%, A8% y A32% consumieron más de la solución que todos los demás grupos de animales agrupados (G4%, G8%, G16% y G32%). Adicionalmente el grupo A8% consumió mas de la solución que los animales del grupo A16%. Sin embargo, ninguna diferencia estadísticamente significativa fue encontrada en la fase de resocialización con respecto al consumo de las diferentes concentraciones. Según estos resultados la fase de mayor consumo de sacarosa consistió en la fase M, o sea, cuando se evaluó el consumo

de sacarosa por segunda vez (cuatro días después del primer bloque de evaluación). Lo anterior sugiere un efecto de memoria del consumo. Adicionalmente, sugiere que la resocialización cambió el patrón de consumo de los grupos ya que después de la misma no se encontró diferencias significativas en el consumo de las diferentes soluciones de sacarosa, lo que parece indicar que la resocialización revierte el efecto de tipo anhedónico de las ratas.

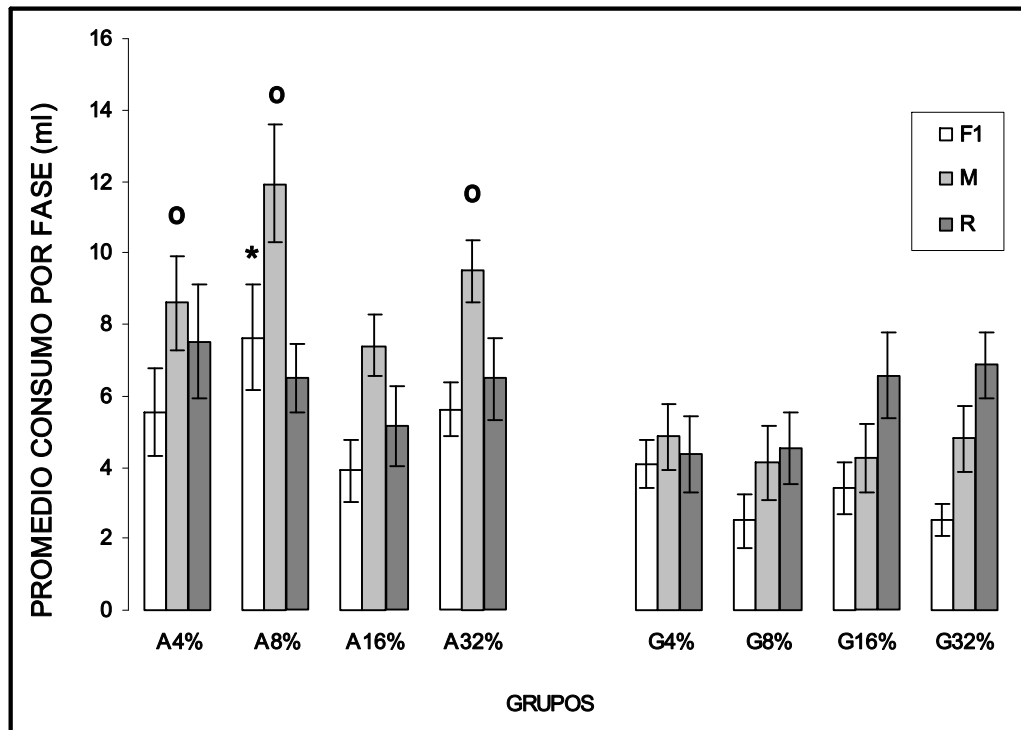


Figura 2. Promedio del consumo por cada fase de la prueba de consumo de sacarosa. **F1**, primera exposición a la prueba de consumo de sacarosa. **M**, fase de memoria. **R**, fase de resocialización. **A**, grupo de ratas aisladas individualmente; **G**, grupo de ratas agrupadas en 6 por jaula. Concentraciones probadas (4%, 8%, 16%, 32%). *, Diferente de los grupos G8% y G32% en la primera fase de la prueba de consumo. °, Diferente de los grupos G4%, G8%, G16%, G32% y A16% en la fase de memoria (Student-Newman-Keuls; $p < 0,05$).

Consumo de sacarosa en gramos por volumen consumido (Figura 3): el ANOVA de dos factores reveló que el consumo de sacarosa en gramos varió en función del tratamiento ($F_{[7,140]} = 27,612$; $p < 0,001$), de la sesión ($F_{[2,140]} = 19,069$; $p < 0,001$) y que hubo interacción entre estos dos factores ($F_{[14,140]} = 6,049$; $p < 0,001$). El análisis *post hoc* (Student-Newman-Keuls) reveló que en

la fase **F1** y **M**, los animales del grupo A32% consumieron más sacarosa ($p < 0,001$) que todos los demás animales aislados socialmente y en grupo (A4%, A8%, A16%, G4%, G8%, G16% y G32%). Adicionalmente en la fase **M** los animales del grupo G32% consumieron más que los animales de los grupos G4%, G8%, G16%, A4 y A8% ($p < 0,001$), sin variar en relación al grupo A16% ($p = 0.132$). Por otro lado cuando se evaluó el consumo en gramos de sacarosa en la fase de resocialización, la prueba Student-Newman-Keuls mostró que las ratas del grupo G32% y A32% consumieron más que G4%, G8%, G16%, A4%, A8% y A16% ($p < 0,001$), pero el consumo entre ambos (A32% y G32%) no varió ($p = 0.597$). Por lo tanto, de manera general el consumo del grupo A32%, disminuyó en la fase de resocialización, aunque fue mayor que el consumo de los demás grupos. Sin embargo, en la fase de resocialización, a diferencia de los resultados descritos anteriormente donde el volumen de solución de sacarosa por los diferentes grupos de animales no varió, los animales del grupo G32% consumieron más en la fase de resocialización que en la fase de memoria. Estos resultados parecen sugerir, nuevamente, que la resocialización cambió el patrón de consumo de sacarosa, ya que aquellos animales que estaban aislados socialmente y que pasaron a estar alojados en grupo disminuyeron el consumo y, por el contrario, los que estaban alojados en grupo y pasaron a estar aislados socialmente aumentaron el consumo. A favor de lo anterior, la reversión del consumo fue evidenciada en todos los grupos de animales aislados socialmente, excepto para el grupo A4%.

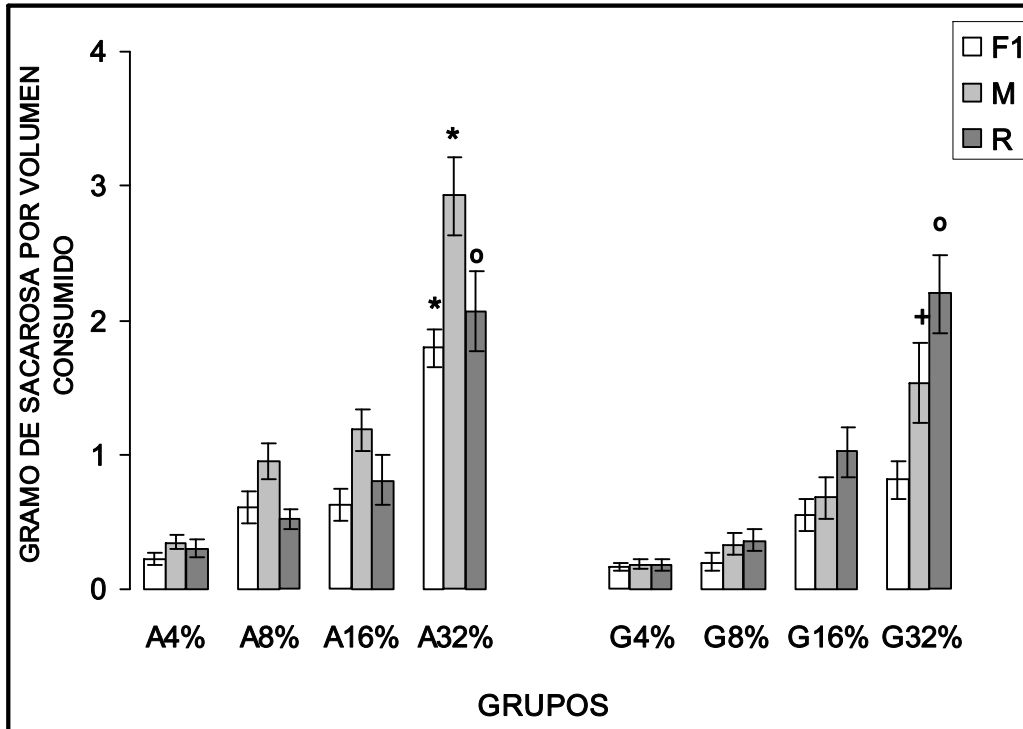


Figura 3. Consumo de sacarosa en gramos por volumen consumido. **F1**, primera exposición a la prueba de consumo de sacarosa. **M**, fase de memoria. **R**, fase de resocialización. **A**, grupo de ratas aisladas individualmente; **G**, grupo de ratas agrupadas en 6 por jaula. Concentraciones probadas (4%, 8%, 16%, 32%). *, Diferente de todos los grupos en F1 y M. +, Diferente de los grupos A4%, A8%, A32%, G4%, G8% y G16% en la fase M. °, Diferente de todos los demás grupos en la fase R. (Student-Newman-Keuls; $p < 0,05$).

Consumo de sacarosa en el último día de la fase de memoria (10 minutos antes de exponer cada rata al LCE) (Figura 4): la prueba t (Mann-Whitney Rank Sum Test) para muestras independientes realizada para evaluar la diferencia del consumo en gramos de sacarosa 10 minutos antes de la exposición al LCE entre animales aislados socialmente y agrupados, demostró que, antes de la exposición al LCE, las ratas aisladas socialmente habían consumido más gramos de sacarosa que los agrupados ($t = 1702,00$).

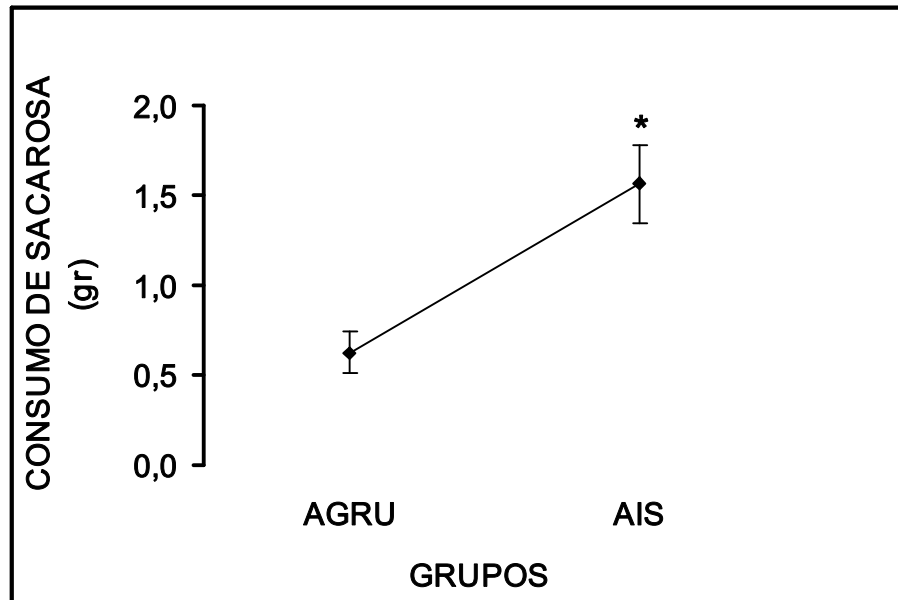


Figura 4. Consumo de sacarosa 10 minutos antes de la exposición al LCE. **AGRU**, animales alojados en grupo; **AIS**, animales aislados socialmente. *, Diferente de los animales alojados en grupo. (Mann-Whitney Rank Sum Test; $p < 0,05$).

Exploración del Laberinto en cruz elevado: el análisis de varianza de dos factores reveló que la *frecuencia de entradas en los brazos abiertos* (Figura 5) no varió en función del tipo de alojamiento ($F_{[1,82]} = 1,858$; $p > 0,05$), del tratamiento ($F_{[3,82]} = 0,295$; $p > 0,05$) y no hubo interacción entre los estos dos factores ($F_{[3,82]} = 0,953$; $p > 0,05$). También no demostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos determinadas por el tipo de alojamiento ($F_{[1,82]} = 1,510$; $p > 0,05$), por el tratamiento ($F_{[3,82]} = 0,479$; $p > 0,05$) y tampoco hubo interacción ($F_{[3, 82]} = 0, 727$; $p > 0,05$) entre los dos factores (alojamiento x tratamiento) con respecto al *porcentaje de entradas en los brazos abiertos* (Figura 5). De igual manera el análisis no reveló diferencias estadísticas significativas entre los grupos determinadas por el tipo de alojamiento ($F_{[1, 82]} = 0,252$; $p > 0,05$), por el tratamiento ($F_{[3, 82]} = 0, 263$; $p > 0,05$) y no interacción entre los factores evaluados ($F_{[3, 82]} = 1, 269$; $p > 0,05$) relacionadas con el *porcentaje de tiempo en los brazos abiertos*. Finalmente, ninguna diferencia estadística determinada por el tipo de alojamiento ($F_{[1,$

$_{82}] = 0,252; p>0,05)$, por el tratamiento ($F_{[3, 82]} = 0,262; p>0,05)$ e interacción ($F_{[3, 82]} = 1,269; p>0,05)$ fue encontrada entre los grupos por el ANOVA de dos factores con relación al tiempo absoluto de permanencia en brazo abierto (Figura 6). Estos resultados sugieren que el tipo de alojamiento crónico implementado en el presente estudio no alteró el comportamiento exploratorio de las ratas en el LCE. Por otra parte el número de *cruzamientos* (número de cuadrados atravesados en los brazos abiertos y cerrados del laberinto) no varió entre los grupos debido al tipo de alojamiento ($F_{[1, 82]} = 1, 322; p>0,05)$, tratamiento ($F_{[3, 82]} = 0,693; p>0,05)$, ni hubo interacción ($F_{[3, 82]} = 1, 407; p>0,05)$ entre los dos factores (Figura 7). Lo anterior sugiere que las condiciones de alojamiento y la preferencia por el consumo tampoco influenciaron la actividad locomotora de los animales en este modelo.

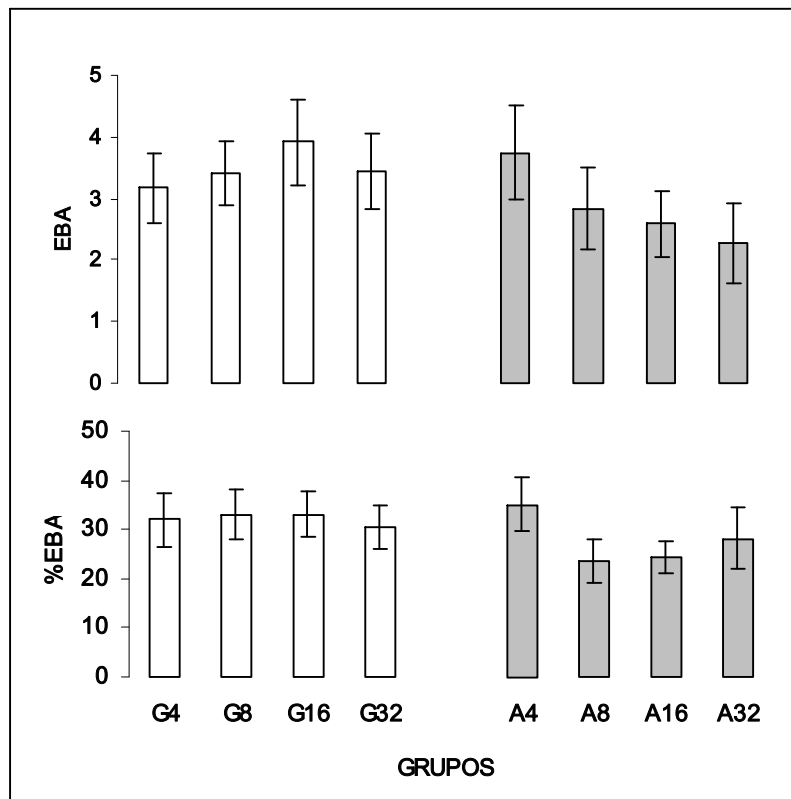


Figura 5. Frecuencia absoluta (EBA) y porcentaje de entradas en los brazos abiertos (%EBA) del laberinto en cruz elevado. A, grupo de ratas aisladas individualmente; G, grupo de ratas agrupadas en 6 por jaula. Concentraciones probadas (4%, 8%, 16%, 32%). (ANOVA de dos factores; $p > 0,05$).

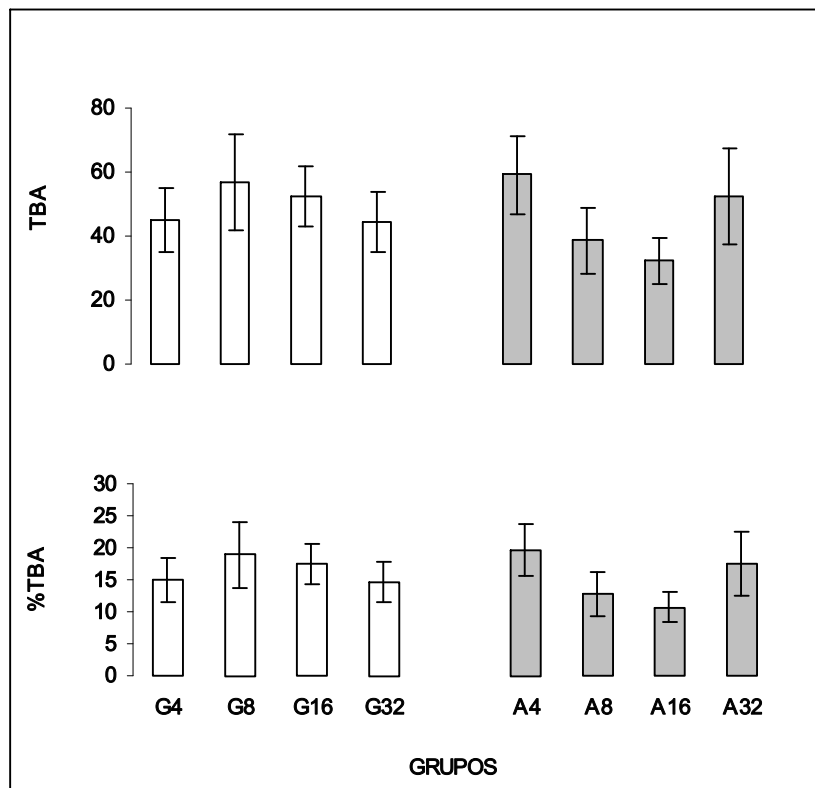


Figura 6. Tiempo absoluto (TBA) y porcentaje de tiempo (segundos) de permanencia en los brazos abiertos (%TBA) del laberinto en cruz elevado. A, grupo de ratas aisladas individualmente; G, grupo de ratas agrupadas en 6 por jaula. Concentraciones probadas (4%, 8%, 16%, 32%). (ANOVA de dos factores; $p > 0,05$).

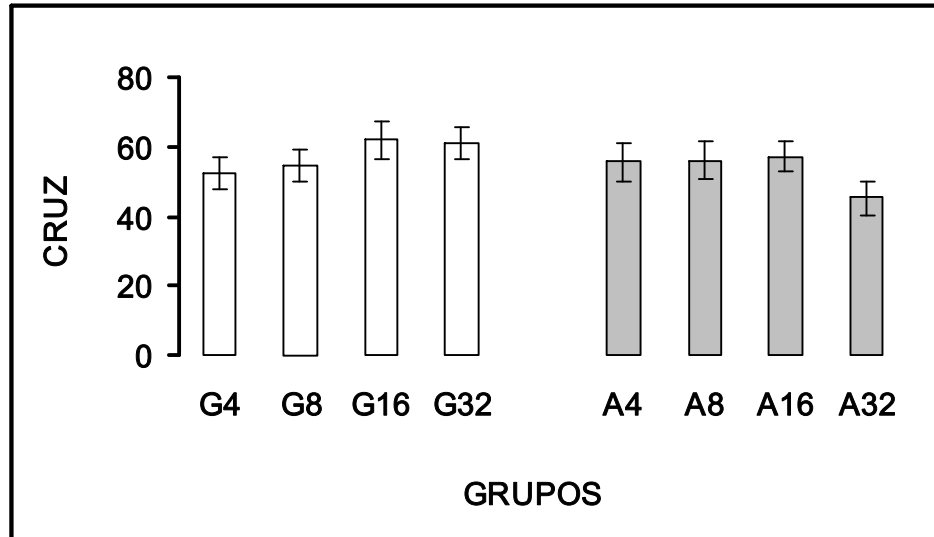


Figura 7. Número de cruzamientos (CRUZ) en el laberinto en cruz elevado. **A**, grupo de ratas aisladas individualmente; **G**, grupo de ratas agrupadas en 6 por jaula. Concentraciones probadas (4%, 8%, 16%, 32%). (ANOVA de dos factores; $p > 0,05$).

Glicemia post LCE (Figura 8): el análisis de varianza de dos factores reveló que el tipo de alojamiento varió el nivel de glicemia posterior a la exposición al LCE ($F_{[1, 87]} = 4,247$; $p < 0,05$), sin embargo, no hubo diferencias estadísticas atribuibles al tratamiento (porcentaje de sacarosa consumida: 4%, 8%, 16% o 32%) ni hubo interacción entre los dos factores ($F_{[3, 87]} = 1,113$ y $F_{[3, 87]} = 0,0994$, $p > 0,05$, respectivamente). La prueba t de Bonferroni reveló que los animales aislados socialmente presentaron niveles de glicemia mas elevados que los animales agrupados ($t = 2.061$).

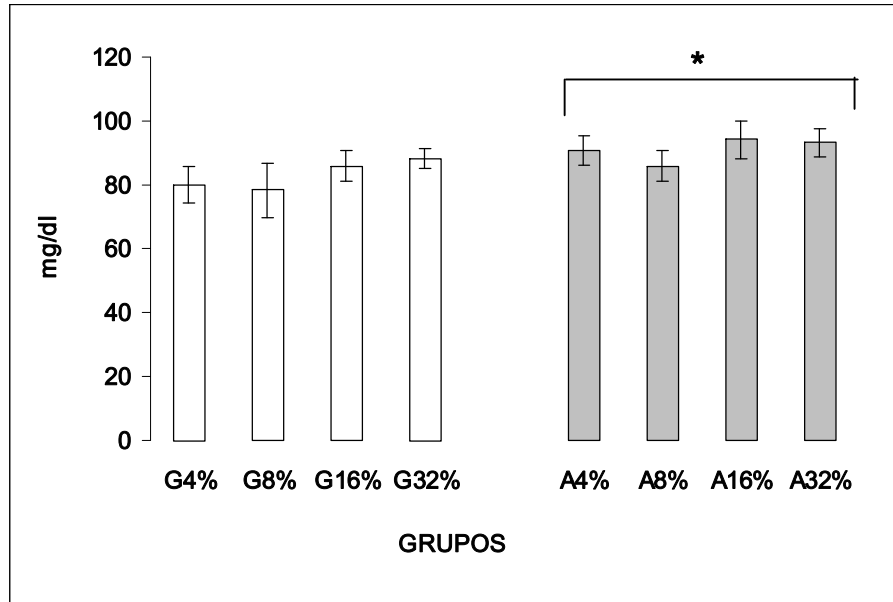


Figura 8. Niveles de glicemia post exposición al LCE. *, Diferente de los animales agrupados. (ANOVA de dos factores; $p < 0,05$).

Correlación entre el promedio del consumo de la solución de sacarosa (ml) en cada fase de la prueba (F1, M y R) y las variables comportamentales derivadas de la exploración del LCE (Tabla 2): el análisis de correlación de Spearman no encontró correlación estadísticamente significativa entre el promedio de consumo de solución de sacarosa en las tres fases de la prueba y la frecuencia de entradas (número absoluto y %) y tiempo de permanencia en el brazo abierto del laberinto, la frecuencia entrada (número absoluto y %) en los brazos cerrados, así como con el número de cruzamientos, sugiriendo que el patrón de consumo de sacarosa en las diferentes fases de la prueba no alteró el comportamiento de las ratas en el laberinto ($p > 0,05$). Estos resultados sugieren que el patrón de consumo de la solución de sacarosa de las ratas aisladas socialmente o en grupo, en las diferentes fases de la prueba, no fue determinante sobre el perfil comportamental exhibido por las mismas en el LCE.

Tabla 2. Correlación entre el volumen de sacarosa consumida (promedio de los 4 días) y las variables comportamentales derivadas de la exposición de las ratas al LCE. **CRUZ**, número de cruzamientos. **F1**, primera exposición a la prueba de consumo de sacarosa. **M**, segunda exposición a la prueba de consumo de sacarosa, o fase de memoria. **R**, última exposición a la prueba de consumo de sacarosa, o resocialización. **EBA**, frecuencia de entradas en los brazos abiertos. **EBC**, frecuencia de entradas en los brazos cerrados. **%EBA**, porcentaje de entradas en los brazos abiertos. **%EBC**, porcentaje de entradas en los brazos cerrados. **TBA**, tiempo de permanencia en los brazos abiertos (Prueba de correlación de Spearman; $p > 0,05$).

	F1	M	R
CRUZ	$r=-0,0263$ $p=0,805$	$r=-0,0934$ $p=0,38$	$r=0,00227$ $p=0,983$
EBA	$r=-0,00778$ $p=0,942$	$r=-0,0224$ $p=0,834$	$r=0,0852$ $p=0,424$
EBC	$r=-0,11$ $p=0,3$	$r=-0,16$ $p=0,132$	$r=-0,0969$ $p=0,363$
%EBA	$r=0,0379$ $p=0,722$	$r=0,0265$ $p=0,804$	$r=0,13$ $p=0,223$
%EBC	$r=-0,0379$ $p=0,722$	$r=-0,0265$ $p=0,804$	$r=-0,13$ $p=0,223$
TBA	$r=0,0841$ $p=0,43$	$r=-0,00992$ $p=0,926$	$r=0,0227$ $p=0,832$

Correlación entre el consumo en gramos de sacarosa por volumen consumido, el consumo de sacarosa en gramos por volumen consumido 10 minutos antes de la exposición al LCE y las variables comportamentales derivadas de la exploración en el LCE (Tabla 3): según el análisis de correlación de Spearman no hubo correlaciones estadísticamente significativas entre la cantidad en gramos de sacarosa consumida en las diferentes fases de experimentación (F1, M y R), el consumo en gramos 10 minutos antes de la exposición al LCE y la frecuencia de entradas (número absoluto y %) y tiempo de permanencia en el brazo abierto del laberinto, la frecuencia de entrada (número absoluto y %) en los brazos cerrados, así como con el número de cruzamientos, ($p>0,05$). Estos resultados sugieren en primer lugar que el patrón de consumo de sacarosa (en gramos) de las ratas aisladas socialmente o en grupo, en las diferentes fases, tal como fue demostrado anteriormente con respecto al volumen consumido, no estuvo asociado al

perfil comportamental exhibido por las mismas en el LCE. Adicionalmente, sugiere que la cantidad en gramos consumida 10 minutos antes de la exposición al LCE no afectó la exploración de las ratas en este modelo.

Tabla 3. Correlación entre el consumo de sacarosa en gramos (promedio de los 4 días) y el las variables comportamentales derivadas de la exposición de las ratas al LCE. **F1**, primera exposición a la prueba de consumo de sacarosa. **M**, segunda exposición a la prueba de consumo de sacarosa, o fase de memoria. **R**, última exposición a la prueba de consumo de sacarosa, o resocialización. **M4**, consumo de sacarosa en gramos 10 minutos antes de la exposición al LCE. **CRUZ**, número de cruzamientos. **EBA**, frecuencia de entradas en los brazos abiertos. **EBC**, frecuencia de entradas en los brazos cerrados. **%EBA**, porcentaje de entradas en los brazos abiertos. **%EBC**, porcentaje de entradas en los brazos cerrados. **TBA**, tiempo de permanencia en los brazos abiertos (Prueba de correlación de Spearman; $p > 0,05$).

	F1	M	R	M4
CRUZ	$r = 0,00554$ $p = 0,959$	$r = -0,0678$ $p = 0,525$	$r = -0,0553$ $p = 0,604$	$r = -0,0461$ $p = 0,666$
EBA	$r = 0,00802$ $p = 0,94$	$r = -0,0562$ $p = 0,598$	$r = -0,0293$ $p = 0,783$	$r = -0,0842$ $p = 0,429$
EBC	$r = -0,0973$ $p = 0,361$	$r = -0,137$ $p = 0,196$	$r = -0,103$ $p = 0,333$	$r = -0,0294$ $p = 0,783$
%EBA	$r = 0,0485$ $p = 0,649$	$r = -0,00734$ $p = 0,945$	$r = 0,0241$ $p = 0,821$	$r = -0,0923$ $p = 0,386$
%EBC	$r = -0,0485$ $p = 0,649$	$r = 0,00734$ $p = 0,945$	$r = -0,0241$ $p = 0,821$	$r = 0,0923$ $p = 0,386$
TBA	$r = 0,102$ $p = 0,339$	$r = -0,00468$ $p = 0,965$	$r = -0,0267$ $p = 0,802$	$r = -0,0509$ $p = 0,633$

Correlación entre las variables comportamentales derivadas de la exploración del LCE vs los niveles de glicemia post LCE (Tabla 4): ninguna correlación fue encontrada entre el los niveles de glicemia post LCE y la frecuencia de entradas (número absoluto y %) y tiempo de permanencia en el brazo abierto del laberinto, la frecuencia de entrada (número absoluto y %) en los brazos cerrados, así como con el número de cruzamientos, ($p > 0,05$).

Tabla 4. Correlación entre las variables comportamentales derivadas de la exposición de las ratas al LCE y los niveles de glicemia posterior a la exposición al LCE. **CRUZ**, número de cruzamientos. **EBA**, frecuencia de entradas en los brazos abiertos. **EBC**, frecuencia de entradas en los brazos cerrados. **%EBA**, porcentaje de entradas en los brazos abiertos. **%EBC**, porcentaje de entradas en los brazos cerrados. **TBA**, tiempo de permanencia en los brazos abiertos (Prueba de correlación de Spearman; $p > 0,05$).

	GLICEMIA POST LCE
CRUZ	r = 0,0243 p = 0,82
EBA	r = 0,0893 p = 0,402
EBC	r = -0,0835 p = 0,433
%EBA	r = 0,127 p = 0,231
%EBC	r = -0,127 p = 0,231
TBA	r = 0,131 p = 0,219

Finalmente, considerando que las ratas aisladas socialmente consumieron más gramos de sacarosa que las agrupadas 10 minutos antes de la exposición al LCE (resultados descritos anteriormente), se hizo necesario también explorar si habría alguna correlación entre la cantidad de sacarosa ingerida antes y los niveles de glicemia post exposición a este modelo, con el fin de verificar si los niveles elevados de glicemia presentado por los animales aislados estuvo asociado al estrés producido por la exposición a los estímulos potencialmente aversivos del laberinto o al mayor consumo de sacarosa antes de la exposición al LCE. Efectivamente, el análisis de correlación de Spearman no reveló ninguna correlación entre estas dos variables ($r = 0.117$, $p = 0,270$) sugiriendo que los niveles más elevados de glicemia presentado por los animales aislados socialmente en comparación con los agrupados, son un indicador fisiológico de la reactividad de los animales aislados frente al estrés producido por la exposición al LCE ($p > 0,05$).

Discusión

El objetivo de la primera fase del presente trabajo fue evaluar los efectos del aislamiento social crónico sobre la preferencia de cuatro diferentes concentraciones de sacarosa (4%, 8%, 16% y 32%) o de agua pura. De manera general, tanto los animales aislados como los agrupados, independientemente de las concentraciones, consumieron más de las soluciones de sacarosa que de agua pura en las tres sesiones de evolución del consumo (F1, M y R).

Este resultado, por un lado, confirma el valor de recompensa natural de soluciones dulces demostrado en varios estudios que utilizan el consumo de sacarosa para comprender la neurobiología de la recompensa (la naturaleza apetitiva de un estímulo) y refuerzo (la capacidad de un estímulo de soportar comportamiento aprendido), pretendiendo con esto precisar los mecanismos asociados a los procesos motivacionales (Keating, Walker & Winn, 2002; Olmstead et al., 1999). Por otro lado, también concuerda con otros estudios que han utilizado el valor apetitivo de la sacarosa para evaluar la sensibilidad a la recompensa en ratas expuestas a diferentes estresores crónicos y sometidos a la prueba de consumo de sacarosa. Según algunos autores, la disminución del consumo de sacarosa indica una sensibilidad disminuida a la recompensa, lo que es usado como un indicador operacional de anhedonia en roedores (Andriamampandry et al. 2002; Grippo et al. 2004; Rygula et al. 2005; Sammut et al., 2002; Willner, 2005; Muscat & Willner, 1992). En la mayoría de estas investigaciones se ha utilizado la preferencia por una concentración del 1% de sacarosa y los resultados son muy consistentes (Grippo et al., 2004; Rygula et al., 2005, Muscat et al., 1992; Andriamampandry et al., 2002).

Grippo et al. (2004) evaluaron el consumo de solución de sacarosa 1% en ratas sometidas a estrés crónico moderado durante 4 semanas y evidenciaron un menor consumo de esta solución en comparación con los animales controles, lo que fue interpretado por los autores como un

comportamiento anhedónico. En este estudio también se exploró la participación del sistema de recompensa como un posible mecanismo involucrado en la respuesta a estímulos placenteros asociados con la depresión. Rygula et al. (2005), también encontraron que ratas sometidas durante 5 semanas a un estrés crónico social (paradigma del intruso-residente) redujeron el consumo de una solución de sacarosa (1%) en comparación con el grupo control a partir de la tercera semana.

A favor de lo anterior, Muscat et al. (1992), ya habían encontrado que la administración crónica de fármacos antidepresivos como la Fluoxetina (ISRS) y la Maprotilina (ISRN) revierte la reducción del consumo de solución de sacarosa 1%. Para estos autores, ambos fármacos que actúan respectivamente en los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico potencializan la transmisión dopaminérgica en el núcleo accumbens y mejoran el síntoma anhedónico. Sin embargo, los mecanismos por los cuales la manipulación de dichos sistemas neurotransmisores genera una sensibilidad en los sistemas límbicos dopaminérgicos, hasta este momento parecían ser desconocidos.

En el presente estudio, por el contrario, se encontró que los animales aislados socialmente prefirieron consumir de las soluciones más concentradas (8% y 32%) que los animales alojados en grupo. Este resultado concuerda con los obtenidos por Botelho y Cortes en 2005 (datos no publicados) donde se demostró que los animales sometidos al aislamiento social crónico (21 días) consumieron en mayor proporción la solución de sacarosa 32% en comparación a la de 0,7% y agua pura. Con base en estos resultados, se sugirió la importancia del valor recompensante que cada concentración tiene para el animal. Al parecer, las bajas concentraciones tienen un atenuado valor recompensante, lo que lleva al animal a preferir el consumo de soluciones más concentradas. De esta manera, para el animal “anhedónico” el valor recompensante de la solución debe ser muy elevado para incitarlo a consumir de la solución (como el caso de soluciones de alta

concentración) lo que también está en favor del supuesto de que la anhedonia está asociada a una baja sensibilidad a la recompensa (Brennan, Roberts, Anisman & Merali. 2001; Willner, 2005).

Nuestros resultados coinciden también con los revelados por Sammut et al. (2002) y Hall et al. (1997) quienes han demostrado que la exposición a estresores crónicos moderados produce un incremento de soluciones más concentradas (32% a 34%). Efectivamente, Sammut et al. (2002) mostraron un aumento en el consumo de una solución de sacarosa del 32% y una disminución en el 1% en ratas tratadas con un fármaco utilizado para el tratamiento de la hepatitis C y cáncer que posee como uno de los efectos secundarios negativos la depresión mayor (Interferón-Alfa). Adicionalmente, demostraron que el tratamiento crónico con antidepresivos (desipramina y fluoxetina) promovió una reversión progresiva sobre el consumo de la 32%, sin afectar el consumo de la solución del 1%, sugiriendo que estos antidepresivos revertieron la anhedonia inducida por Interferon.

En contra de lo anteriormente discutido, Murison y Hansen (2001) probaron los efectos del estrés crónico moderado en ratas hembras y machos sobre el consumo de soluciones dulces y encontraron aumentos en consumo tanto de sacarosa (1%) como de sacarina (0.1%), comparados con animales controles no estresados, además sin encontrar diferencia del consumo entre géneros. Considerando que varios otros estudios han demostrado que el estrés moderado produce anhedonia, en este trabajo, en particular, no fue posible reproducir. A pesar de que los autores resaltaron en la discusión que no pretendían ofrecer una explicación para sus hallazgos, hicieron referencia a que la incompatibilidad de sus resultados con la literatura clásica, probablemente, podría estar asociada a diferencias de procedimiento entre e inter-laboratorios, cambios en la rutina de los cuidadores de los animales asociado, naturaleza y nivel de los estresores utilizados y/o factores genéticos. Sin embargo, enfatizan que estas diferencias no podrían ser encontradas ya que este ha sido asumido como un fenómeno absolutamente robusto.

En conjunto todos estos trabajos fortalecen la hipótesis de que el perfil anhedónico en ratas puede ser interpretado tanto por el bajo consumo de soluciones poco concentradas de sacarosa como por el alto consumo de soluciones altamente concentradas evidenciándose, en ambos casos, la baja sensibilidad a recompensas exhibida por estos animales. Por lo tanto, se podría sugerir que el comportamiento de “tipo depresivo” en ratas parece ser evidenciado tanto por el bajo consumo de soluciones muy poco concentradas así como por el elevado consumo (preferencia) de soluciones altamente concentradas.

Por otra parte, en el presente estudio, se mostró claramente que la preferencia por el consumo de las soluciones más concentradas de sacarosa fue más evidente en la fase de memoria que en la fase inicial de evaluación del consumo. Con respecto a este resultado, se ha postulado que el valor de la recompensa de un estímulo (incluyendo la sucrosa) es influenciado por el aprendizaje, su valor de incentivo, y/o su impacto hedonista (Dantzer et al., 1999). En el caso particular de nuestro estudio, probablemente, la preferencia por el consumo de soluciones más concentradas entre animales aislados socialmente y en grupo en la fase de memoria ocurrió de manera más acentuada debido a procesos de aprendizaje, es decir, el animal aprendió del valor recompensante de las altas concentraciones de sacarosa y, por ende, en una segunda oportunidad, la preferencia por el consumo de estas soluciones fue más acentuada.

Otro de los objetivos del presente estudio fue evaluar el efecto de 72 horas de resocialización sobre el consumo de las diferentes concentraciones de sacarosa en ratas sometidas al aislamiento social crónico. Efectivamente, la resocialización fue efectiva en revertir el patrón de preferencia por las diferentes concentraciones de sacarosa, donde el consumo del grupo A32% disminuyó y de los animales del grupo G32% aumentó. Estos resultados indican que la resocialización cambia el patrón de consumo, ya que aquellos animales que estaban alojados individualmente y que pasaron a estar alojados en grupo (A32%) disminuyeron el consumo y, por

el contrario, los que estaban alojados en grupo y pasaron a estar alojados individualmente (G32%) aumentaron el consumo. A favor de lo anterior, la reversión del consumo fue evidenciada en todos los grupos de animales alojados individualmente, excepto para el grupo que consumió la concentración más baja de sacarosa (4%).

Tratando de reflexionar sobre la efectividad de la resocialización en revertir el perfil anhedónico de las ratas demostrado en el presente estudio, es importante mencionar que ha sido demostrado que este procedimiento puede ser efectivo en revertir muchos, pero no todos los efectos del aislamiento social.

Por ejemplo, Wright, Upton & Marsden, (1991) realizaron un estudio donde ratas obtenidas en el destete (21 días) fueron redistribuidas en 2 grandes grupos: aisladas socialmente o en grupo de 4 por jaula hasta la mitad del tiempo que duró el experimento (60 días). Treinta días post destete las ratas fueron evaluadas en cajas de actividad locomotora y tres días después en el LCE. De manera general, los animales aislados socialmente gastaron menos tiempo en el brazo abierto del LCE que los animales agrupados, demostrando que el aislamiento social produce un perfil ansiogénico en este modelo. Después de haber sido expuestos al LCE, la mitad de los animales mantenidos aislados permanecieron aislados y la otra mitad fue alojada en grupo de cuatro por jaula. La mitad de los animales en grupo se mantuvieron agrupados y la otra mitad fue alojada individualmente. Treinta días después, los animales fueron reexpuestos al LCE. Los animales mantenidos aislados durante todo el experimento y aquellos aislados en el destete y después alojados socialmente gastaron menos tiempo en los brazos abiertos del laberinto en comparación con los animales mantenidos socialmente durante todo el experimento. El comportamiento en el LCE de ratas mantenidas en aislamiento durante todo el experimento no fue estadísticamente diferente de aquellos mantenidos en aislamiento y después agrupados en 4

por jaula. Lo mismo se encontró con los animales que se mantuvieron agrupados durante todo el experimento y aquellos que en la mitad del experimento fueron alojados individualmente.

En el caso del experimento anterior, la resocialización de los animales aislados socialmente no revertió el perfil ansiogénico de estos animales en el laberinto cuando expuestos por segunda vez a este modelo. Según los autores, este resultado sugiere que los efectos del aislamiento social producen cambios permanentes en el desarrollo que no son revertidos por la resocialización. Sin embargo, el hecho de que la resocialización no haya revertido el perfil ansiogénico en el LCE de las ratas aisladas, podría estar relacionado con la memoria de la primera exposición, la cual potencia la aversión a los brazos abiertos del LCE (File et al., 1985).

Contrario a lo anterior, Maissonette et al. (1993), evaluaron el efecto de 2 horas a 3 semanas de aislamiento social sobre el comportamiento exploratorio de ratas en el LCE, demostrando que los animales aislados socialmente a partir de 2 horas exhibieron un perfil ansiogénico (significante reducción en el número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos) en este modelo, comparados con los animales alojados socialmente. Mostraron también que el tratamiento con midazolam o la resocialización por un período de 24 horas, claramente revertió estas respuestas producidas por 2 horas de aislamiento en el LCE. Estos científicos sugirieron que la exposición a un período de 2 horas de aislamiento social podría ser una forma no-farmacológica de generar ansiedad en roedores de laboratorio. Adicionalmente, revelaron que el tratamiento crónico, más no agudo con gepirona, un agonista de receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, inhibió el efecto ansiogénico causado por un período de 2 semanas de aislamiento social. Según los autores, considerando la interrelación de mecanismos serotoninérgicos subyacentes a la ansiedad y depresión, se podría sugerir que los efectos ansiogénicos de 2 horas de aislamiento precede la depresión en el modelo ahí utilizado.

Con base en lo anterior, Maisonnette et al. (1993), sugirieron que sus resultados son compatibles con la idea de que la administración crónica de agonistas de receptos 5-HT_{1A} promueve una des-sensibilización progresiva de autoreceptores 5-HT_{1A} somatodendríticos en estructuras como el núcleo del rafe y la activación de receptores 5-HT_{1A} post-sináptico normosensibles, los cuales llevan a un aumento de la actividad de estos receptores en estructuras límbicas. De esta manera, estos autores supusieron que la reducción de la aversividad promovida por resocialización podría ser debido a la recuperación en la actividad 5-HT, pero en un tiempo más corto (24 horas) que el observado en el tratamiento con gepirona. En otras palabras, según los autores, es probable que el procedimiento de resocialización produzca, en un período más corto que la intervención farmacológica, una activación de los mecanismos serotoninérgicos capaces de revertir el estado emocional del animal, mostrando ser un procedimiento bastante efectivo en la reversión, en el caso particular de nuestro estudio, del comportamiento anhedónico inducido por aislamiento crónico. Dicha suposición tiene sentido, principalmente, cuando se sabe de la importancia de la neurotransmisión serotoninérgica en los mecanismos asociados a la depresión.

Es importante resaltar que en el estudio realizado por Wright et al. (1991), las ratas fueron aisladas socialmente durante un período mínimo de 30 días, a diferencia del estudio realizado por Maisonnette et al. (1993), en el cual el alojamiento duró entre 2 horas y 3 semanas máximo. Por lo tanto, el hecho de que la resocialización no haya revertido el perfil ansiogénico como consecuencia de 30 días mínimo de exposición al aislamiento social puede estar realmente asociado a cambios permanentes en el desarrollo de las ratas que no pueden ser revertidos por la resocialización. Sin embargo, en el caso de un período más corto de aislamiento social, los cambios no son permanentes y, por lo tanto, capaces de ser revertidos por la resocialización.

En el presente estudio, el aislamiento social crónico fue efectivo en inducir un comportamiento de “tipo anhedónico” en ratas, el cual pudo ser revertido por 72 horas de resocialización. Por lo tanto, estos resultados fortalecen la idea planteada por Maisonnette et al. (1993) de que la interacción social es un aspecto importante a ser considerado para prevenir los efectos del aislamiento social, al mismo tiempo que refuerzan la premisa de que la privación social puede tener impacto sobre la emocionalidad de las ratas, evidenciada en el caso particular del presente estudio, por una baja sensibilidad a las recompensas.

Otro de los resultados importantes del presente estudio consiste en que los animales evaluados demostraron un perfil anhedónico evidenciado máximamente en la fase de memoria (preferencia aumentada por el consumo de las soluciones mas concentradas de sacarosa). Considerando que de acuerdo con los criterios diagnósticos del DSM-IV, entre los síntomas de la depresión se incluyen aumento o disminución del apetito o un cambio en el patrón alimenticio, se podría inferir que este patrón de consumo, a mediano y a largo plazo, podría llevar a la obesidad. Por lo tanto, el aprendizaje relacionado con el valor recompensante de las soluciones más concentradas de sacarosa podría explicar la relación entre obesidad y depresión (Darby, Hay, Mond, Rodgers & Owen, 2007; Pearlstein, 2002).

Al respecto, algunos estudios sugieren que tanto la depresión puede llevar a la obesidad como la obesidad puede ser un factor de riesgo para sufrir de depresión (Simon et al. 2006). Efectivamente, parece haber una relación significativa entre los desórdenes del humor y la obesidad. Sin embargo, las razones de esta relación todavía no han sido comprendidas. Podría ser debido a los factores iatrogénicos (las medicaciones para los desórdenes del humor asociadas a aumento de peso), a la co-ocurrencia de la depresión y obesidad, a los factores patógenos heredados o a las varias combinaciones de estas posibilidades (Balon, 2006). Según Balon (2006), investigadores como McElroy et al. (2004) revisaron estudios sobre la obesidad en

personas con desórdenes del humor, y de los desórdenes del humor en personas con obesidad. Cuando compararon los estudios sobre los desórdenes de la obesidad y del humor con respecto a la fenomenología, comorbilidad, antecedentes familiares, biología y a la respuesta al tratamiento farmacológico, concluyeron que los estudios clínicos rigurosos sugieren que (1) los niños y los adolescentes con desorden depresivo importante sufren el riesgo creciente de llegar a ser gordos; (2) pacientes con desorden bipolar pueden tener índices más altos del exceso de peso, obesidad, y obesidad abdominal, y (3) personas obesas que buscan el tratamiento para pérdida de peso pueden tener índices más altos de desórdenes depresivos y bipolares. También concluyeron que la mayoría de los estudios rigurosos de la comunidad científica sugieren que (1) depresión con síntomas atípicos en hembras está significativamente más asociada a exceso de peso que la depresión con síntomas típicos; (2) la obesidad está asociada a desorden depresivo en hembras, y (3) la obesidad abdominal se puede asociar a síntomas depresivos en hembras y varones, no obstante (4) muchas personas con sobrepeso y obesas no tienen desórdenes del humor.

En concordancia con lo anterior, algunos estudios moleculares y clínicos como lo demostrado en una revisión por Bornstein, Schuppenies, Wong y Licinio (2006), indican que los mediadores de la respuesta de estrés ocupan un papel clave para las interacciones gene-ambiente en la biología compartida de la depresión y obesidad. Según estos autores el eje hipotálamo-pituitario-adrenal es un sistema modelo para mediar las interacciones gene-ambiente y la desregulación de este sistema de respuesta al estrés es un elemento clave para comprender la relación entre depresión y obesidad. Efectivamente, se ha relatado que los sistemas glucocorticoides/CRF pueden participar en los procesos motivacionales asociados a las propiedades de recompensa de un estímulo (Pecina, Schulkin & Berridge, 2006). Parece ser, según Koob (2003), Pecoraro, Reyes, Gomez, Bhargava y Dallman (2004) citados por Pecina (2006), que el estrés induce anhedonia, frustración, disforia y estados aversivos negativos, los

cuales comúnmente se buscan contrarrestar consumiendo recompensas hedónicas. Por lo tanto, no es sorprendente que el valor de incentivo de un estímulo dependa, en parte, de proyecciones ascendentes de dopamina hacia el núcleo accumbens y del sistema mesocorticolímbico hacia este mismo núcleo y mecanismos asociados al sistema de placer (Norgen, Hajnal & Mungarndee, 2006).

De igual forma, en un estudio realizado por Grippo y colaboradores (2005) donde sometieron un grupo de ratas al modelo de estrés crónico moderado con el propósito de producir la anhedonia, y a su vez, de investigar cambios en el sistema inmune y neuroendocrino, constataron el síntoma de la anhedonia por el consumo reducido de una solución de sacarosa del 1% y cambios en el eje HPA, al encontrar niveles elevados de corticosterona y aldosterona. Tomando estos resultados, sugirieron que hay comunicación importante entre los sistemas nerviosos periférico y central, que asocia la depresión, el estrés y la disfunción cardiovascular, y que a la vez, las citocinas crecientes del sistema nervioso central pueden relacionarse con la severidad de la anhedonia (depresión). En concordancia con esta teoría, propusieron que es posible que la activación de HPA, debido a la exposición al CMS, conduzca a una baja regulación de receptores glucocorticoides y a una sensibilidad disminuida del sistema inmune a la corticosterona, resultando consecuentemente en un aumento de citocinas. Los resultados descritos en el estudio indican que la comunicación entre mediadores neuroendocrinos e inmunes involucra procesos reguladores y de retroalimentación que influyen tanto el humor como la función cardiovascular.

En contraste a todo lo anterior, Forbes, Stewart, Matthews y Reid en 1996 realizaron un estudio donde sometieron ratas privadas o no de comida a un modelo de estrés crónico imprevisible y demostraron que el peso corporal y el consumo de sacarosa (0.9%) disminuyó exclusivamente en los animales privados. Con base en estos resultados, sugirieron que la

reducción en el consumo de sacarosa en los animales estresados, no es un índice válido de baja sensibilidad a la recompensa, o de síntoma anhedónico. Por el contrario, propusieron que la disminución del consumo es influenciada por las consecuencias metabólicas inducidas por la privación de comida, poniendo en duda la disminución en el consumo de sacarosa como medida de anhedonia en ratas. Sin embargo, como se ha citado anteriormente, hay una gran cantidad de estudios en los cuales esta hipótesis no se ha podido explicar (Willner, 2005).

Efectivamente, los resultados del presente estudio no favorecen la hipótesis planteada por Forbes et al. (1996), ya que en el presente caso no se manipuló el sistema de ingesta de alimento, es decir, ningún animal fue privado de alimento y, sin embargo, la preferencia por el consumo de concentraciones altas de sacarosa fue evidente para los animales sometidos al aislamiento social crónico en comparación a los controles, sugiriendo comportamiento anhedónico. Con base en lo anterior, se podría suponer que las discrepancias entre los resultados de Forbes et al. (1996) y la mayoría de la literatura al respecto, pueden ser debidas en parte a las diferencias en el procedimiento, al tratamiento de las ratas controles, al tipo de estresor o al modelo comportamental utilizado (Vazquez, Farley Giros & Daugé, 2005). Adicionalmente, podrían estar asociadas con las diferentes cepas de ratas utilizadas, con el manejo dentro de los diferentes biotérios o, posiblemente, con la concentración de sacarosa utilizada en la prueba de consumo.

Considerando la alta comorbilidad reportada entre ansiedad y depresión (Andreatini & Bacellar, 1999; Rogoz, Skuza & Kllodzinska, 2004) y que el aislamiento social y cambios ambientales agudos son factores de riesgo en la depresión humana, el cual representa la falta de estímulo necesario para modular respuestas adaptativas a una nueva situación (Ishida, Mitsui, Nukaya, Matsumoto & Tsuji, 2003); el presente estudio pretendió evaluar los efectos del aislamiento social crónico de ratas sobre el comportamiento de “tipo ansiedad” en el laberinto en cruz elevado.

La falta de contacto físico en la vida temprana ha sido demostrada generar reacciones comportamentales y fisiológicas que son conocidas por afectar, considerablemente, la reactividad emocional. En este sentido, la emocionalidad aumentada por aislamiento social ha sido largamente reportada estar relacionada con actividad locomotora (Weiss, Dorio, Feldon & Domeney, 2000), defecación (Holson, Scallet, Ali & Turner, 1991) y neofobia en respuesta a una situación nueva (Hall et al., 1997). En este caso, la locomoción aumentada ha sido asociada con una respuesta de fuga, mientras que la locomoción disminuida ha sido relacionada a una respuesta de congelamiento. En ambos casos, esta alteración de la actividad locomotora ha sido usada como un índice de estado de ansiedad (Archer, 1973), al igual que con la neofobia (Holson et al., 1991) y la frecuencia de defecación, relacionada con una susceptibilidad al estrés experimentado en un nuevo ambiente o situación.

De manera general, los resultados del presente estudio demostraron que el aislamiento social crónico no produjo un perfil ansiogénico en el modelo del laberinto en cruz elevado. A favor de éstos resultados, Morato et al. (1997), ya habían demostrado que el aislamiento social combinado con otro estresor (novedad) produjo un aumento en la exploración de los brazos abiertos del laberinto a diferencia de las ratas sometidas solamente al aislamiento social. Según estos autores, estos resultados podrían ser interpretados de dos maneras: por un lado, niveles más altos de ansiedad accionan mecanismos que median acciones más vigorosas, puesto que la combinación de dos situaciones aversivas en este trabajo dio lugar a una mayor exploración de los brazos abiertos, que con cualquiera de uno de los dos estresores por separado; por otro lado, este aumento de entrada a los brazos abiertos y en las extremidades de del mismo por parte de las ratas aisladas podría ser interpretado como una estrategia del animal para conseguir la información necesaria para localizar, identificar y confirmar la presencia del peligro (Becerra et al., 2005).

No obstante, los resultados del presente estudio no coinciden con los reportados en la mayoría de los estudios encontrados en la literatura, donde se ha demostrado que el aislamiento social produce un perfil ansiogénico en el LCE (Botelho et al., 2007; Frussa Filho, Otoboni, Oema & Sá-Rocha, 1991; Ghizoni et al., 2006; Kunth et al., 2007; Maisonnette et al., 1993; Vasar et al., 1993; Wright et al., 1991).

Gameiro et al. (2006), sometieron ratas al estrés de contención agudo, sub-crónico y crónico e, inmediatamente después, las evaluaron en el LCE y encontraron que los animales sometidos a los diferentes protocolos de estrés presentaron un porcentaje más bajo de entradas y un menor tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto, en comparación con el grupo control. Los autores concluyeron que todos los protocolos de estrés utilizados en este estudio, indujeron niveles significativos de ansiedad, tal como se evalúa en este modelo animal. Adicionalmente, encontraron que los niveles de las hormonas adrenocorticotrópicas se elevaron perceptiblemente en la sangre, al igual que un aumento en las respuestas al dolor o hiperalgia en animales estresados, respaldando desde el punto de vista fisiológico, la ansiedad producida por los diferentes protocolos de estrés utilizados (agudo, sub-crónico y crónico).

De la misma forma, Kunth et al. (2007) demostraron que el aislamiento social neonatal produce un perfil ansiogénico en el campo abierto y en el laberinto en cruz elevado, especialmente en respuesta al estrés, sin embargo, demostraron que este perfil ansiogénico no estuvo asociado a una activación del sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal. A pesar de lo anterior, en conjunto, los resultados arrojados en los anteriores estudios ratifican que el aislamiento social puede producir un perfil ansiogénico en el LCE, el cual está asociado a la implementación del protocolo de estrés en edades tempranas (McCormick et al., 2008 y Kunth et al., 2007).

Dando respuesta al tercer objetivo del presente estudio y, considerando que los animales aislados socialmente consumieron, diez minutos antes de la exposición al LCE, más gramos de

sacarosa que los agrupados, se podría sugerir la posibilidad de que ésta hubiese producido un efecto ansiolítico en este modelo, a pesar de que no fue encontrada ninguna correlación entre la cantidad en gramos de sacarosa consumida 10 minutos antes y el comportamiento de las ratas en el LCE.

A favor de lo anterior, en un estudio realizado por Desousa, Wunderlich, De Cabo y Vaccarino (1998), si bien no pretendían examinar el efecto ansiolítico de la sacarosa en el laberinto en cruz elevado, evaluaron el comportamiento de “tipo ansiedad” de un grupo de ratas que habían consumido, en promedio, más sacarosa durante ocho sesiones de 1 hora diaria (altos consumidores) y de un grupo de ratas que habían consumido menos (bajos consumidores) los cuales, seguidamente, fueron expuestos al LCE. Los animales del primer grupo entraron más y permanecieron más tiempo en los brazos abiertos del laberinto que los animales del segundo grupo, sugiriendo un perfil ansiolítico de estos animales. Adicionalmente, el comportamiento de estos mismos animales fue evaluado en otro modelo de ansiedad, el de sobresalto acústico (sobresalto potenciado por miedo), con el cual se arrojó resultados contrarios a los del laberinto. Es decir, los altos consumidores respondieron con sobresalto mucho más intensamente que los bajos consumidores, indicando una alta reactividad emocional de los primeros. Según los autores de este estudio, estos datos ofrecen evidencias para soportar la noción de que las diferencias individuales en los niveles basales de consumo oral de sacarosa son preedictores de ansiólisis en ratas.

Por otro lado, el perfil ansiolítico de las ratas arrojado en el presente estudio, podría ser consecuente con una alteración en los mecanismos a largo plazo producido por el aislamiento crónico. Al respecto, en un estudio realizado por Aldridge, Levin, Seidler, y Slotkin (2005), ratas fueron expuestas al insecticida Clorpirifos durante el 1º al 4º día postnatales, el cual en niveles bajos de toxicidad, pueden causar cambios neuroquímicos a largo plazo en el sistema

serotoninérgico (5HT) similares a los que se encuentran en la depresión humana. Posteriormente, en la edad adulta estos animales fueron evaluados en el LCE. Según los resultados, las ratas pasaron más tiempo en los brazos abiertos del LCE, atribuyendo este comportamiento de tipo ansiolítico a la pérdida de la función sináptica serotoninérgica. Esta, por lo tanto, podría ser una posible explicación para los resultados del presente estudio, lo que incita a la elaboración de nuevos estudios destinados a la comprensión de los mecanismos involucrados en los efectos a largo plazo producidos por el aislamiento social.

Con base en todo lo anterior, se podría sugerir que los niveles más elevados de sacarosa consumida 10 minutos antes de la exposición al LCE pudo haber producido un efecto ansiolítico en las ratas aisladas socialmente. No obstante, considerando que verificar el efecto de diferentes cantidades de sacarosa ingerida sobre el comportamiento de las ratas en el LCE, no era inicialmente un objetivo de la presente investigación y que, por ende, el diseño experimental de la misma no lo contempló, posteriores estudios son necesarios para probar esta posibilidad, lo que ya se encuentra en curso en nuestro laboratorio.

Finalmente, uno de los aportes del presente estudio radica en demostrar que los animales alojados individualmente presentaron hiperglucemia posterior a la exploración del LCE en comparación con los animales alojados en grupos. Considerando que los análisis estadísticos realizados no revelaron correlación entre la cantidad de sacarosa consumida 10 minutos antes y los niveles de glicemia post laberinto, se podría inferir que, desde el punto de vista fisiológico, la exposición al LCE, produjo una respuesta de estrés evidenciada por los niveles más elevados de glicemia de los aislados socialmente.

De acuerdo con lo anterior, Ghizoni et al. (2006) sometieron ratas a diferentes tiempos de exploración al LCE y demostraron que los animales que exploraron durante cinco minutos presentaron niveles más altos de glicemia en la sangre que los que exploraron por solo un minuto.

Adicionalmente, encontraron que las ratas con altos niveles de glicemia entraron menos y permanecieron menos tiempo en los brazos abiertos del laberinto, en relación con las que tenían glicemia baja, concluyendo que a mayor nivel de glicemia, mayores niveles de ansiedad. Estos resultados también concuerdan con los demostrados por Lin et al. (2005), quienes sometieron ratas a protocolos de estrés crónico imprescindible y demostraron que los animales estresados presentaron aumento de la glicemia en la sangre en comparación con las ratas control.

Efectivamente, ha sido demostrado que los niveles de glucosa plasmático están relacionados con la intensidad del estímulo estresor en ratas (Armario, Martí & Balash, 1990) y en humanos (Armario, Marti, Molina, De Pablo & Valdes, 1996) y que cuando una rata es sometida a una situación estresante, tal como la exploración del LCE, la hiperglucemia inducida por estrés podría preparar la respuesta de enfrentamiento del animal, no solamente por medio de ofrecer recursos energéticos para una eventual reacción de fuga o lucha, sino también para el establecimiento del aprendizaje emocional asociado a aquel contexto (Ghizoni et al., 2006).

De manera general, los resultados del presente estudio demuestran que el aislamiento social crónico produce un perfil anhedónico en ratas evidenciado en la preferencia por el consumo de soluciones más concentradas de sacarosa e hiperglucemia posterior a la exposición al LCE, pero no un perfil ansiogénico en este modelo. Lo anterior parece sugerir que el aislamiento social crónico puede ser un modelo de estrés crónico moderado compatible con la etiología de la depresión humana.

Conclusiones

- El aislamiento social crónico produjo un comportamiento de tipo anhedónico en ratas, evidenciado por un mayor consumo de las soluciones más concentradas de sacarosa (32%), que los animales alojados en grupo.
- El comportamiento de tipo anhedónico, además de mantenerse en la fase de memoria, fue más acentuado, lo que podría estar asociado con la memoria del valor recompensante que cada concentración tiene para el animal.
- La resocialización revertió el perfil anhedónico presentado por las ratas mantenidas en aislamiento social crónico.
- El aislamiento social crónico no produjo un perfil ansiogénico en el LCE, a pesar de que aumentó los niveles de glicemia en las ratas.
- Ninguna correlación fue encontrada entre el consumo de sacarosa, los niveles de glicemia y el comportamiento en el laberinto en cruz elevado

Recomendaciones

De acuerdo a los resultados arrojados en el presente estudio, se recomienda la realización de otras investigaciones para explorar los mecanismos por los cuales la resocialización puede revertir la “anhedonia” producida por aislamiento social crónico. Adicionalmente, se recomienda la realización de nuevos estudios para clarificar el posible efecto ansiolítico del consumo de concentraciones altas de sacarosa sobre la exploración de las ratas en el LCE.

Finalmente, se sugiere la necesidad de corroborar el perfil anhedónico caracterizado por el incremento de soluciones más concentradas de sacarosa con otro síntoma depresivo, como la desesperanza aprendida, evaluada por el modelo del nado forzado, un modelo clásico para evaluar la depresión experimental.

Referencias

- Ainge, J. A., Keating, G. L., Latimer, M. P. & Winn, P. (2006). The Pedunculopontine Tegmental Nucleus and Responding for Sucrose Reward. *Behavioral Neuroscience*, 120, 563–570.
- Aldridge, J. E., Levin, E. D., Seidler, F. & Slotkin, T. A. (2005) Developmental Exposure of Rats to Chlorpyrifos Leads to Behavioral Alterations in Adulthood, Involving Serotonergic Mechanisms and Resembling Animal Models of Depression. *Environmental Health Perspectives*, 113, 527-531.
- American Psychiatric Association. (1994). Diagnostic and statistical manual of mental disorders, (4a.ed.), American Psychiatric Association Press, Washington, DC, EE. UU.
- Andreatini, R. & Bacellar, L. (1999). The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. *Brazilian Journal Medical and Biological Research*, 32, 1121-6.
- Andriamampandry, C., Muller, C., Schmidt, C., Gobaille, S., Spedding, M., Aunis, D. & Maitre, M. (2002). Mss4 gene is up-Regulated in rat brain after chronic treatment with antidepressant and down-Regulated when rats are anhedonic. *Molecular Pharmacology*, 62, 1332-8.
- Archer, J. E. (1973). Test for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behavior*, 21, 205-235.
- Argyropoulos, S.V. & Nutt, D. J. (1997). Anhedonia and chronic mild stress model in depression. *Psychopharmacology*, 134, 333-336.
- Armario, A., Martí, J. & Gil, M. (1990). Glucose response to acute stress is sensitive to the intensity of the stress and to habituation. *Psychoneuroendocrinology*, 15, 341-347.
- Armario, A., Martí, O., Molina, T., De Pablo, J. & Valdes, M. (1996). Acute stress markers in humans: response of plasma glucose, cortisol and prolactin to two examinations differing in the anxiety they provoke. *Psychoneuroendocrinology*, 21, 17-24.

- Avena, N., Bocarsly, M., Rada, P., Kim, A. & Hoebel, B. (2008). After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. *Physiology & Behavior*, 94, 309-15.
- Balon, R. (2006). Mood, anxiety, and physical illness: body and mind, or mind and body?. 1: *Depression and Anxiety*, 23, 377-87.
- Bassi, S., Nobre M., Carvalho M. & Brandao M. (2007). Substance P injected into the dorsal periaqueductal gray causes anxiogenic effects similar to the long-term isolation as assessed by ultrasound vocalizations measurements. *Behavioural Brain Research*, 182, 301-7.
- Becerra, A., Parra F. & Morato S. (2005) Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus maze. *Physiology & Behavior*, 85, 265 – 270.
- Becerra, A. M., Madalena, A. C., Estanislao, C., Rodríguez, J. L., Dias, H., Bassi, A., Chagas, D. A. & Morato, S. (2007). Ansiedad y Miedo: su valor adaptativo y maladaptaciones. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 39, 75-81.
- Bekker, H.L., Legare, F., Stacey, D., O' Connor, A. & Lemyre, L. (2003). In anxiety a suitable measure of decision aid effectiveness: A systematic review ?. *Patient Education and Counseling*, 50, 255-262.
- Benton, D., Parker, P.Y. & Donohoe, R. (1996). The supply of glucose to the brain and cognitive functioning. *Journal of Biosocial Science*, 28, 463– 479.
- Benton, D., Ruffin, M., Lassel, T., Nabb, S., Messaoudi, M., Vinoy, S., Desor, D. & Lang, V.(2003).The delivery rate of dietary carbohydrates affects cognitive performance in both rats and humans. *Psychopharmacology*, 166, 86–90.
- Bittner, A., Egger, H., Erkanli, A., Costello, J., Foley, D. & Angold, A., (2007). What do childhood anxiety disorders predict?. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48, 1174–1183.

- Blanchard, D. C., Blanchard, R. J. & Rodgers, R. J. (1991). Risk assessment and animal model of anxiety. In: Olivier B, Mos J, Slangen JL, editors. *Animal models in psychopharmacology*, Birkhauser Verlag AG: Basel, 117-134.
- Blanchard, J. J., Horan, W. P. & Brown, S. A. (2001). Diagnostic Differences in Social Anhedonia: A Longitudinal Study of Schizophrenia and Major Depressive Disorder. *Journal of Abnormal Psychology*, 110, 363-371.
- Bornstein, S., Schuppenies, A., Wong, M. & Licinio, J. (2006). Approaching the shared biology of obesity and depression: the stress axis as the locus of gene-environment interactions. *Molecular Psychiatry*, 11, 892-902.
- Borsini, F., Podhorna, J. & Marazziti, D. (2002). Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants?. *Psychopharmacology*, 163, 121–141.
- Borta, A. & Schwarting, R. (2005). Inhibitory avoidance, pain reactivity, and plus-maze behavior in Wistar rats with high versus low rearing activity. *Physiology & Behavior*, 84, 387-396.
- Botelho, S. & Conde, C. (2001). Modelos animales para el estudio de ansiedad y depresión. *Salud UIS*, 33, 260-271.
- Botelho, S., Estanislau, C. & Morato, S. (2007). Effects of under- and overcrowding on exploratory behavior in the elevated plus-maze. *Behavioural Processes*, 74, 357–362.
- Brandão, M. L. (2001). Psicofisiología: as bases fisiológicas do comportamento. Comportamento emocional. (2a. ed.) São Paulo: *Atheneu*, 125-145.
- Brawman, M. O., Lydiard, R. B., Emmanuel, N., Payeur, R., Johnson, M. & Roberts, (1997). Generalized anxiety disorder. *Tasman Psychiatry*, 1100-1118.
- Brennan, K., Roberts, D., Anisman, H. & Merali, Z. (2001). Individual differences in sucrose consumption in the rat: motivational and neurochemical correlates of hedonia. *Psychopharmacology*, 157, 269-276.

- Cabib, S. & Puglisi, S. (1996). Stress, depression and the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology*, 128, 331–342.
- Cadavid, N., Delgado, A. & Prieto, G. (2007). Construcción de una escala de depresión con el modelo de Rasch. *Psicothema*, 19, 515-521
- Carobrez, A.P. & Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Biochemical Reviews*, 2, 1193-1205.
- Cassano, GB. & Michelini, S. (1995). Pharmacological treatment of depression and comorbid anxiety disorders. *Advances in Biochemical Psychopharmacolgy*, 49, 113-25.
- Choeiri, C., Staines, W., Miki, T., Seino, S. & Messier, C. (2005). Glucose transporter plasticity during memory processing. *Neuroscience*, 130, 591–600.
- Chopin, P. & Briley, M. (1987). Animal models of anxiety: the effect of compounds that modify 5-HT neurotransmission. *Trends in Pharmacological Sciences*, 8, 383-388.
- Colantuoni, C., Rada, P., McCarthy, J., Patten, C., Avena, N. M., Chadeayne, A., Hoebel, B. G. (2002). Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. *Obesity Research*, 10, 478-88.
- Conde, C. Costa, B. & Tomaz, C. (2000). PROSTCOM: Un conjunto de programas para el registro y procesamiento de datos comportamentales en investigaciones de fisiología y farmacología. *Biotemas*, 13, 145-159.
- Conde, C., Ayala, J., Bothelo, S., Berena, A. & Velásquez, M. (2001) La vía visual puede ser el disparador de ansiogenicidad en el modelo del laberinto en cruz elevado. *Salud UIS*, 33, 191-196.
- Crawley, J. N. (1981). Neuropharmacologic specificity of a simple animal model of the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 15, 695-699.
- Dantzer, R., Wollman, E. E., Vitkovic, L. & Yirmiya, R. (1999). Cytokines, stress, and depression. Conclusions and perspectives. *Advnces in experimental medicine and biology*, 461, 317-29.

- Darby, A., Hay, P., Mond, J., Rodgers, B. & Owen, C. (2007). Disordered eating behaviours and cognitions in young women with obesity: relationship with psychological status. *International Journal of Obesity*, 31, 876-882.
- Desousa, N. J., Wunderlich, G. R., De Cabo, C. & Vaccarino, F. J. (1998). Individual differences in sucrose intake predict behavioral reactivity in rodent models of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and behavior*, 60, 4, 841-6.
- Ehlers, C., Kaneko, W. M., Owens, M. J. & Nemeroff, C. B. (1993). Effects of gender and social isolation on electroencephalogram and neuroendocrine parameters in rats. *Biological Psychiatry*, 33, 358-66.
- Fairclough, S. H. & Houston, K. (2004). A metabolic measure of mental effort. *Biological Psychology*, 66, 177-190.
- Fernández, C. & File, S. (1996). The influence of open arm ledges and maze experience in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and behavior*, 54, 31-41.
- File, S. E. & Briley, M. (1991). *New Concepts in Anxiety*. Macmillan press, Londres.
- File, S. E., Gonzalez, L. E. & Gallant, R. (1998). Role of the basolateral nucleus of the amygdala in the formation of a phobia. *Neuropsychopharmacology*, 19, 397-405.
- File, S.E. (1992). The pharmacology of benzodiazepine tolerance and withdrawal. *Clinical Neuropharmacology*, 15, 100-101.
- Fone, K. C., 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, 346-52.
- Forbes, N., Stewart, C., Matthews, K. & Reid, I. (1996). Chronic mild stress and sucrose consumption: validity as a model of depression. *Physiology & Behavior*, 60, 1481-1484.
- Foster, J., Lidder, P. & Sünram, S. (1998). Glucose and memory: fractionation of enhancement effects?. *Psychopharmacology*, 137, 259-270.

- Frussa-Filho, R., Otoboni, J., Oema, F. & Sá-Rocha, L. (1991). Evaluation of memory and anxiety in rats observed in the elevated plus-maze: effects of age and isolation. *Brazilian Journal Medical and Biological Research*, 24, 725-728.
- Gambardella, P., Greco, AM., Sticchi, R., Bellotti, R. & Di Renzo, G. (1994). Individual housing modulates daily rhythms of hypothalamic catecholaminergic system and circulating hormones in adult male rats. *Chronobiology International*, 11, 213-21.
- Gameiro, G., Gameiro, P., da Silva, A., Ferrinho, L., Trevisani, M., Klein, F. & Ferraz, M. (2006). Nociception- and anxiety-like behavior in rats submitted to different periods of restraint stress. *Physiology & Behavior*, 87, 643-649.
- Garcia, R.G., Lopez, P.J. & Tomaz, C. (2007). Papel del sistema nervioso autónomo en la relación entre depresión y enfermedad cardiovascular. *Revista de Neurobiología*, 44, 225-233.
- Genaro, G., Schmidek, W. R. & Franci, C. R. (2004). Social condition affects hormone secretion and exploratory behavior in rats. *Brazilian Journal of medical and Biological Research*, 37, 833-840.
- Gentil, V. (1997). Ansiedade e transtornos de ansiedade. En Gentil V., Lotufo-Neto F., Bernik M.A. *Panico, Fobias e Obsesões* (3ª. ed.) (pp 29-36). São Paulo, Editorial da Universidade de São Paulo.
- Gentsch, C., Lichtsteiner, M., Frischknecht, H., Feer, H. & B. Siegfried. (1988). Isolation-induced locomotor hyperactivity and hypoalgesia in rats are prevented by handling and reversed by resocialization. *Physiology & Behavior*, 43, 13-16.
- Ghizoni, D. M., João, L. M., Moratelli, L., da Cunha, I.C. , Orlandi, L., (2006). The effects of metabolic stress and vagotomy on emotional learning in an animal model of anxiety. *Neurobiology of Learning and Memory*, 86, 107–116.
- Gómez, C. & Rodríguez, N. (1997) Factores de riesgo asociados al síndrome depresivo en población colombiana. *Revista colombiana de psiquiatría*, 26, 23-35.

- Gómez, C., Bohórquez, A., Pinto, D., Gil, J., Rondón, M. & Díaz, N. (2004). Prevalencia de depresión y factores asociados con ella en la población colombiana. *Revista Panamericana de Salud Publica*, 16, 378–86.
- Graeff, F. C. & Brandao, M. L. (1993). Neurobiologia das doenças mentais. Ansiedade. Sao Paulo: *Lemos*, 109-144.
- Graeff, F.G. (1997). Neuropsychiatry of the basal ganglio. Serotonergic systems. *Psychiatric Clinics of North América*, 20, 723-739.
- Grippe, A. J., Na, E. S., Johnson, R. F., Beltz, T. G. & Johnson, A. K. (2004). Sucrose ingestion elicits reduced Fos expression in the nucleus accumbens of anhedonic rats. *Brain Research*, 1019, 259–264.
- Grippe, A., Francis, J., Beltz, T., Felder, R. & Johnson, A. (2005). Neuroendocrine and cytokine profile of chronic mild stress-induced anhedonia. *Physiology & Behavior*, 84, 697–706.
- Grippe, A.J., Beltz, T.G. & Johnson, A.K. (2003). Behavioral and cardiovascular changes in the chronic mild stress model of depression. *Physiology and Behavior*, 78, 703-710.
- Grønli, J., Murison, R., Bjorvatn, B., Sørensen, E., Portas, C.H. & Ursin, R. (2004). Chronic mild stress affects sucrose intake and sleep in rats. *Behavioural Brain Research*, 150, 139-147.
- Guadarrama, L. Escobar, A. & Zhang, L. (2006). Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. *Revista de la Facultad de Medicina*, 49, 66-71.
- 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, 291–297.
- Hall, F.S., Huang, S., Fong, G.W. & Pert, A. M. (1998). Effects of isolation-rearing on voluntary consumption of ethanol, sucrose and saccharin solutions in Fawn Hooded and Wistar rats. *Psychopharmacology*, 139, 210-216

- Haller, J. & Halász, J. (1999). Mild social stress abolishes the effects of isolation anxiety and chlordiazepoxide reactivity. *Psychopharmacology*, 144, 311–315.
- Handley, S.L. & Mithani, S. (1984). Effects of alpha2-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behavior. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 327, 1-5.
- Heidbreder, C.A., Weiss, I.C., Domeney, A.M., Pryce, C., Homberg, J., Hedou, G., Feldon, J., Moran, M.C. & Nelson, P. (2000). Behavioral, Neurochemical and Endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. *Neuroscience*, 100, 749-768.
- Hellems K. G., Bengel L. C., Olmstead M. C. (2004) Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Developmental Brain Research*, 150, 103– 115
- Hofer, M. A., Masmela, J. R., Brunelli, A. S. & Shair, H. N. (1999). Behavioral Mechanisms for active maternal potentiation of isolation calling in rat pups. *Behavioral Neuroscience*, 113, 51-61.
- Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology biochemistry and behavior*, 54, 21-30.
- Holson, R., Scallet, A., Ali, S. & Turner, B. (1991). "Isolation stress" revisited: isolation rearing effects depend on animal care methods. *Physiology and Behavior*, 49, 1107-1118.
- Huot, R., Thirvikraman, K. V., Meaney, M. & Plotsky, P. (2001). Development of adult ethanol preference and anxiety as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment. *Psychopharmacology*, 158, 366-373.
- Imanaka, A., Morinobu, S., Toki, S., Yamamoto, S., Matsuki, A., Kozuru, T. & Yamawaki, S. (2008). Neonatal tactile stimulation reverses the effect of neonatal isolation on open-field and anxiety-like behavior, and pain sensitivity in male and female adult Sprague–Dawley rats. *Behavioural Brain Research*, 186, 91–97.

- Ishida, H., Mitsui, K., Nukaya, H., Matsumoto, K. & Tsuji, K., (2003). Study of active substances involved in skin dysfunction induced by crowding stress. I. Effect of crowding and isolation on some physiological variables, skin function and skin blood perfusion in hairless mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 26, 170-80.
- Jayatissa, M., Bisgaard, C., West, M. & Wiborg, O (2008). The number of granule cells in rat hippocampus is reduced after chronic mild stress and reestablished after chronic escitalopram treatment. *Neuropharmacology*, 54, 530-41.22.
- Juárez, J. (2007). Estrategias farmacológicas y conductuales en el estudio del hedonismo. En Velázquez & Anaya (Eds), *Neurología del Hedonismo* (pp 21-34). (2ª ed.). Mexico: Manual Moderno.
- Keating, G., Walker, S. & Winn, P. (2002). An examination of the effects of bilateral excitotoxic lesion of the pedunculopontine tegmental nucleus on responding to sucrose reward. *Behavioural Brain Research*, 134, 217-228.
- Keating, G., Walker, S. & Winn, P. (2002). An examination of the effects of bilateral excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus on responding to sucrose reward. *Behavioural Brain Research*, 134, 217-28.
- Kendler, K., Gardner, C. & Prescott. (2006). Hacia un modelo global del desarrollo de la depresión mayor en los varones. *America Jourdan Psychiatry*. (Ed Esp). 9: 178-187.
- Kennedy, S., Evans, K., Krüger, S., Mayberg, H., Meyer, J., McCann, S., Arifuzzman, A., Houle, S. & Vaccarino, F. (2001). Changes in Regional Brain Glucose Metabolism Measured With Positron Emission Tomography After Paroxetine Treatment of Major Depression. *American Journal of Psychiatry*, 158, 899–905.
- Kessler, R., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., MeriKangas, K., Rush, A., Walter, E. & Wang, P. (2003). The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity

- Survey Replication (NCS-R). *The Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 289, 3095-3105.
- Knuth, E. & Etgen, A. (2007). Long-term Behavioral Consequences of Brief, Repeated Neonatal Isolation. *Brain Research*, 1128, 139–147.
- Kroenke, K., Spitznagel, R., Williams, J., Monahan, P. & Lowe, B. (2007). Anxiety Disorders in Primary Care: Prevalence, Impairment, Comorbidity, and Detection. *Annals of Internal Medicine*, 146, 371-325.
- Lalumiere, R.T., Nguyen, L.T. & McGaugh, J.L. (2004). Post-training intrabasolateral amygdala infusions of dopamine modulate consolidation of inhibitory avoidance memory: involvement of noradrenergic and cholinergic systems. *The European Journal of Neuroscience*, 20, 2804-2810.
- Lapiz, M. D., Mateo, Y., Parker, T. & Marsden, C. (2000). Effects of noradrenaline depletion in the brain on response to novelty in isolation-reared rats. *Psychopharmacology*, 152, 312-320.
- Lin, Y., Liu, A., Xu, Y., Tie, L., Yu H. & Li, X. (2005). Effect of chronic unpredictable mild stress on brain-pancreas relative protein in rat brain and pancreas. *Behavioural Brain Research*, 165, 63-71.
- Lister, R. G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berlin)*, 92, 180-185.
- Maisonnette, S., Morato, S. & Brandão, M. (1993). Role of resocialization and of 5-HT_{1A} Receptor activation on the anxiogenic effects induced by isolation in the elevated plus-maze test. *Physiology & Behavior*. 54, 753-758.
- Matthews, K. & Robbins, T. (2003). Early experience as a determinant of adult behavioural responses to reward: the effects of repeated maternal separation in the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27, 45–55.

- Matuszewich, L. , Karney, J. J., Carter, S. R., Janasik, S. P., O'Brien, J. L. & Friedman, R. D. (2007). The delayed effects of chronic unpredictable stress on anxiety measures. *Physiology & Behavior*, 90, 674–681.
- McCormick, M.C., C. Smith, C. & Mathews, I. (2008). Effects of chronic social stress in adolescence on anxiety and neuroendocrine response to mild stress in male and female rats. *Behavioural Brain Research*, 187, 228–238.
- McElroy, S., Kotwa, R., Malhotra, S., Nelson, E., Keck, P. & Nemeroff, C. (2004). Are mood disorders and obesity related? A review for the mental health professional. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 65, 634-51.
- McEwen, B. S. & Stellar, E. (1993). Stress and the individual: mechanisms leading to disease. *Archives of Internal Medicine*, 153, 2093–2101.
- McEwen, B. S. (1998). Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med*. 338:171–179.
- McEwen, B. S. & Reagan, L. P. (2004). Glucose transporter expression in the central nervous system: Relationship to synaptic function. *European Journal of Pharmacology*, 490, 13–24.
- McGaugh, J. (1989). Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Annual Review of Neuroscience*, 12, 255–287.
- Meikle, A., Riby, L. & Stollery, B. (2004). The impact of glucose ingestion and gluco-regulatory control on cognitive performance: a comparison of younger and middle aged adults. *Human psychopharmacology*, 19, 523–535.
- Messier, C. (2004). Glucose improvement of memory: a review. *European Journal of Pharmacology*, 490, 33–57.
- Mongomery, K. C. (1955). The relation between fear induced by novel simulation and exploratory behavior. *The Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48, 254-260.

- Morato, S. & Brandão, M. L. (1997). Paradoxical increase of exploratory behavior in the elevated plus-maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. *Brazilian Journal of medical and Biological Research*, 30, 1113-1120
- Murison, R. & Hansen, A. (2001). Reliability of the Chronic Mild Stress Paradigm: Implications for Research and Animal Welfare. *Integrative Physiological and Behavioral Science*, 36, 266–274.
- Muscat, R. & Willner, P. (1992). Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: a methodological analysis. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 16, 507-17.
- Muscat, R. & Willner, P. (1992). Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: a methodological analysis. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 16, 507-517.
- Muscat, R., Papp, M. & Willner, P. (1992). Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and maprotiline. *Psychopharmacology*, 109, 433-438.
- Nestler, E., Hyman, S. & Malenka, R. (2001). Mood and Emotion. En *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience* (pp 327-354). United States of American. McGraw-Hill.
- Norgren, R., Hajnal, A. & Mungarndee, S.S. (2006). Gustatory reward and the nucleus accumbens. *Physiology & Behavior*, 89, 531–535.
- Olmstead, M., Inglis, W., Bordeaux, C., Clarke, E., Wallum, N., Everitt, B. & Robbins, T. (1999). Lesions of the pedunclopontine tegmental nucleus increase sucrose consumption but do not affect discrimination or contrast effects. *Behavioral Neuroscience*, 113, 732-43.
- Páez, X., L. Hernández, T. & Baptista. (2003). Avances en la terapéutica molecular de la depresión. *Revista de Neurología*, 37, 459-470.
- Pardridge, W. M., Boado, R. J. & Farrell, C. R. (1990). Brain-type glucose transporter (Glut-1) is selectively localized to the blood–brain barrier studies with quantitative western blotting and in situ hybridisation. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 18035–18040.

- Parker, P.Y. & Benton, D. (1995). Blood-glucose levels selectively influence memory for word lists dichotically presented to the right ear. *Neuropsychologia*, 33, 843–854.
- Pearlstein, T. (2002). Selective serotonin reuptake inhibitors for premenstrual dysphoric disorder: the emerging gold standard?. *Drugs*, 62, 1869-85.
- Peciña, S., Schulkin, J. & Berridge, K. C. (2006). Nucleus accumbens corticotropin-releasing factor increases cue-triggered motivation for sucrose reward: paradoxical positive incentive effects in stress?. *BMC Biology*, 4 (8), 1-16.
- Pellow, S. Chopin, P. File, S.E. & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24, 525-529.
- Picazo, O. P. & Roldán, G. R. (1996). Modelos animales utilizados para el estudio de la ansiedad y desarrollo de fármacos ansiolíticos. *Acta Médica*, 31, 122. 79-86.
- Pinel, J. (2007). Biopsicología. (6.^a ed.). Universidad de British Columbia. Madrid, Person educación.
- Pinheiro, S. H., Zangrossil-Jr, H., Del-Ben, C.M. & Graeff, F. G. (2007). Elevated mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 79, 71-85.
- Pizzagalli, D. A., Oakes, T. R., Fox, A. S., Chung, M. K., Larson, C. L., Abercrombie, H. C., Schaefer, S. M., Benca, R. M. & Davidson, R. J. (2004). Functional but not structural subgenual prefrontal cortex abnormalities in melancholia. *Molecular Psychiatry*, 9, 393-405.
- Posada, J. A. & Fuentes, T.C. (2004). Prevalencia, severidad y necesidades no satisfechas del tratamiento de los trastornos de ansiedad, relacionados con sustancias, del estado de ánimo y del control de impulsos en adultos según el Estudio Nacional de Salud Mental, Colombia 2003. *Medunab*, 7, 65-72.

- Posada, J. A., Buitrago, J., Medina. & Rodriguez, M. (2006). Trastorno de ansiedad según distribuido por edad, género, variaciones por regiones, edad de aparición, uso del servicio, estado civil y funcionamiento discapacitado según el estudio nacional de salud mental-Colombia. *NOVA Publicacion científica*, 4, 33-41.
- Pratt, W. E. & Kelle, .A. E.(1992). Nucleus Accumbens Acetylcholine Rygulates Appetitive Learning and Motivation for Food via Activation of arinic Receptors. *Behavioral Neuroscience*, 118, 730–739.
- Prut, L. & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigma to measure the effects of drug on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463, 3-33.
- Riby, L. M., Meikle, A. & Glover, C. (2004). The effects of age, glucose ingestion and gluco-Ryglatory control on episodic memory. *Age Ageing*, 33, 483–487.
- Roca, M. & Baca, E. (2006). Respuesta y remisión en pacientes depresivos con síntomas de ansiedad tratados con venlafaxina retard en atención primaria. *Actas Psiquiatricas Españolas*, 34,162-168.
- Rodríguez, J. F., Pulido, F. & Saavedra, M. (2007). La depresión en la medicina mesoamericana precolombina. *Revista de Neurología*, 44, 375-380.
- Rogoz, Z., Skuza, G. & Kllodzinska, A. (2004). Anxiolytic and antidepressant-like effects of 7-OH-DPAT, preferential dopamine D3 receptor agonist, in rats. *Polish Journal of Pharmacology*, 56, 519–526.
- Rozanski, A., Blumenthal, J. A. & Kaplan J. (1999). Impact of psychosocial factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy. *Circulation*, 99, 2192–2217.
- Rygula, R., Abumaria, N., Fl`ugge, G., Fuchs, E., R`uther, E., Havemann, R. U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress. *Behavioural Brain Research*, 162, 127–134.

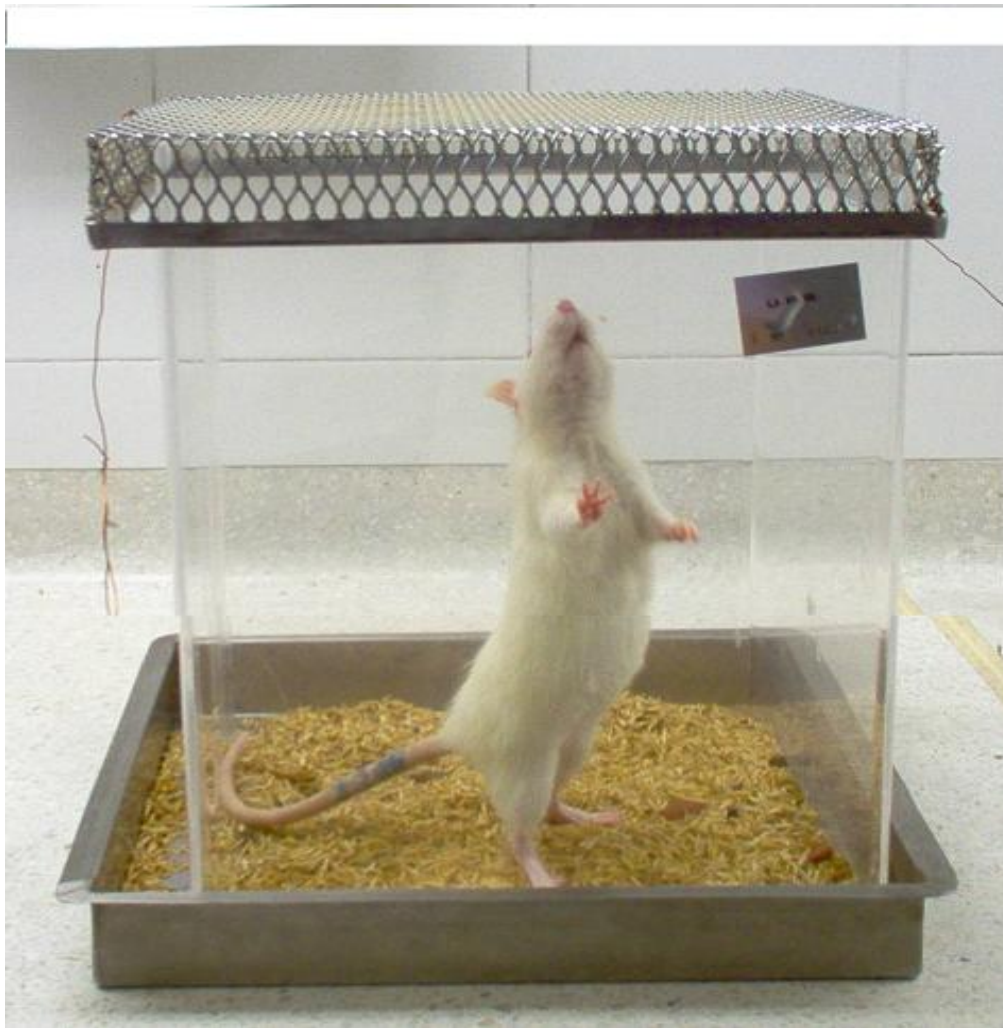
- Sahakian, B. J., Robbins, T.W. & Iversen, S.D. (1977). The effects of isolation rearing on exploration in the rat. *Animal Learning & Behavior*, 5, 193-198.
- Sakai, Y., Kumano, H., Nishikawa, M., Sakano, Y., Kaiya, H., Imabayashi, E., Ohnishi, T., Matsuda, H., Yasuda, A., Sato, A., Diksic, M., Kuboki, T. (2005). *Brain Imaging. Neuroreport*, 16, 927-931.
- Saldaña, D., Natasa, S., Ljubica, G. & Varavic, V. (2007). Behavioural and endocrine responses of socially isolated rats to long-term dizepam treatment. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 57, 291-302.
- Sammut, S., Bethusb, I., Goodallb, G. & Muscata, R. (2002). Antidepressant reversal of interferon- α -induced anhedonia. *Physiology & Behavior*, 75, 765–772.
- Saxena, S., Brody, A., Maidment, K., Smith, E., Zohrabi, N., Baker, S. & Baxter, L. (2004). Metabolismo de la glucosa cerebral en el acaparamiento obsesivo-compulsivo. *American Journal of Psychiatry*, 7, 481-491.
- Schaefer, M. L., Wong, S.T., Wonzniak, D. F., Muglia, M. L., Liauw, J. A., Zhuo, M., Nardi, A., Hartman, R. E., Vogt, S.K., Luedke, C.E., Storm, D.R. & Mugali, L.J. (2000). Altered stress-induced anxiety in adenylyl cyclase type VIII- deficient mice. *The journal of Neuroscience*, 20, 4809-4820.
- Schmidt, k., Nolte, B., Patzer, J., Bauer, M., Schmidt, L. G. & Heinz, A. (2001). Psychopathological correlates of reduced dopamine receptor sensitivity in depression, schizophrenia, and opiate and alcohol dependence. *Pharmacopsychiatry*, 34, 66-72.
- Scholey, A. B., Harper, S. & Kennedy, D. O. (2001). Cognitive demand and blood glucose. *Physiology Behavioral*, 73, 585–592.
- Segato, F., Castro C., Segato, E., Morato, S. & Coimbra, N. (1997). Sucrose ingestion causes opioid analgesia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30, 981-984.
- Shelton, R. & Tomarken, A. (2001). Can Recovery From Depression Be Achieved?. *Psychiatric Services*, 52, 1469–1478.

- Shuhama, R., Del-Ben, C., Loureiro, S. & Graeff, F. (2007). Animal defense strategies and anxiety disorders. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 79, 97-109.
- Simon, G. E., Von, M. K., Saunders, K. J., Miglioretti, D. L., Crane, P. K., Van, G. B. & Kessler, R. C. (2006). Association Between Obesity and Psychiatric Disorders in the US Adult Population. *Archives of general psychiatry*, 63, 824-830.
- Slone, L. B., Norris, F. H. Murphy, A. D., Baker, C. K., Perilla, J. L., Diaz, D., Gutiérrez, F. & Gutiérrez, J. J. (2006). Epidemiology of major depression in four cities in Mexico. *Depression and Anxiety*, 23, 158–167.
- Spielberger, C. H., Buela, G., Agudelo, D., Carretero, H. & Santolaya, F. (2005). Análisis de validez convergente y discriminante de la versión experimental castellana del cuestionario de Depresión Estado-Rasgo (ST-DEP). *Actas Españolas de Psiquiatria*, 33, 374-382.
- Stahl, S. M. (1996). Essential psychopharmacology: Neuroscientific basis and practical. *Cambridge University Press, Cambridge*, 167-215.
- Stein, D. J., Honk, J., Ipser, J., Solms, M. & Panksepp, J. (2007). Opioids: from physical pain to the pain of social isolation. *CNS Spectr*, 12, 669-70, 672-4.
- Strome, E.M., Wheler, G.H., 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 Science of the United States of America*, 99, 15749-15754.
- Treit, D. & Fundytus, M. (1989). Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 31, 959-962.
- Treit, D., Menard, J. & Royan, C. (1993). Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 44, 463-469.

- Vale, A.L. & Montgomery, A. M. (1997). Social interaction: responses to chlordiazepoxide and the loss of isolation-reared effects with paired-housing. *Psychopharmacology*, 133, 127-132.
- Vasar, E., Peuranen, E., Harro, J., Lang, A., Orelande, L. & Mannisto, (1993). Social isolation of rats increases the density of cholecystokinin receptors in the frontal cortex and abolishes the anti-exploratory effect of caerulein. *Naunyn-Schmiedeber's Archives of Pharmacology*, 348, 96-101.
- Vazquez, V., Farley, S., Giros, B. & Daugé, V. (2005). Maternal deprivation increases behavioural reactivity to stressful situations in adulthood: suppression by the CCK2 antagonist L365, 260. *Psychopharmacology*, 181, 706–713.
- Vogel, J. R, Beer, B. & Clody, D. E. (1971). A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia*, 21, 1-7.
- Vyas, A. & Chattarji, S. (2004). Modulation of Different States of Anxiety-Like Behavior by Chronic Stress. *Behavioral Neuroscience*, 118, 1450–1454.
- Wang, G.J., Volkow, N. D., Chang, L., Miller, E., Sedler, M., Hitzemann, R., Zhu, W., Logan, J., Ma, Y. & Fowler, J. S. (2004). Partial recovery of brain metabolism in methamphetamine abusers after protracted abstinence. *The American Journal of Psychiatry*, 161, 242-248.
- Wann, B., Bah, T., Boucher, M., Courtemanche, J., Marec, N., Rousseau, G., Godbout, R. (2007). Vulnerability for apoptosis in the limbic system after myocardial infarction in rats: a possible model for human postinfarct major depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 32, 11-6.
- Watson, D., Weber, K., Assenheimer, J. S., Clark, L. A., Strauss, M. E. & McCormick, R. A. (1995). Testing a tripartite model: I. evaluating the convergent and discriminant validity of anxiety and depression symptom subscales. *Journal of Abnormal Psychology*, 1, 3-14.

- Weiss, I. C., Pryce, C. R., Jongen-R[^]elo, A. L., Nanz-Bahr, N. I. & Feldon, J. (2004). Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*, 152, 279–295.
- Weiss, I., Di Iorio, L., Feldon, J. & Domeney, A. M. (2000). Strain differences in the isolation-induced effects on prepulse inhibition of the acoustic startle response and on locomotor activity. *Behavioral Neuroscience*, 114, 364-73.
- Willner, P. (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, 134, 319-329.
- Willner, P. (2005). Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52, 90-110.
- Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S. & Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 93, 358-364.
- Winocur, G. (1995). Glucose-enhanced performance by aged rats on a test of conditional discrimination learning. *Psychobiology*, 23, 270–276.
- Winsolw, J. T. & Insel, T. R. (1991). The infant rat separation paradigm: a novel test for novel anxiolytics. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 15, 745-757.
- Wright, I. K., Upton, N. & Marsden, C.A.(1991). Resocialization of isolation-reared rats does not alter their anxiogenic profile on the elevated x-maze of anxiety. *Physiology Behavioral*, 50, 1129–32.
- Wright, I.K., Ismail, H., Upton, N. & Marsden, C. (1992). Effect of isolation rearing on 5-HT agonist-induced responses in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 105, 259-63.
- Zangrossi, H. Jr. & File, S. (1992). Chlordiazepoxide reduces the generalised anxiety, but not the direct responses, of rats exposed to cat odor. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 43, 1195-200.

Anexo 1



Anexo 2



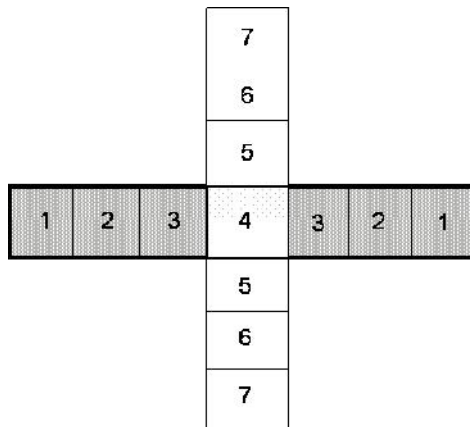
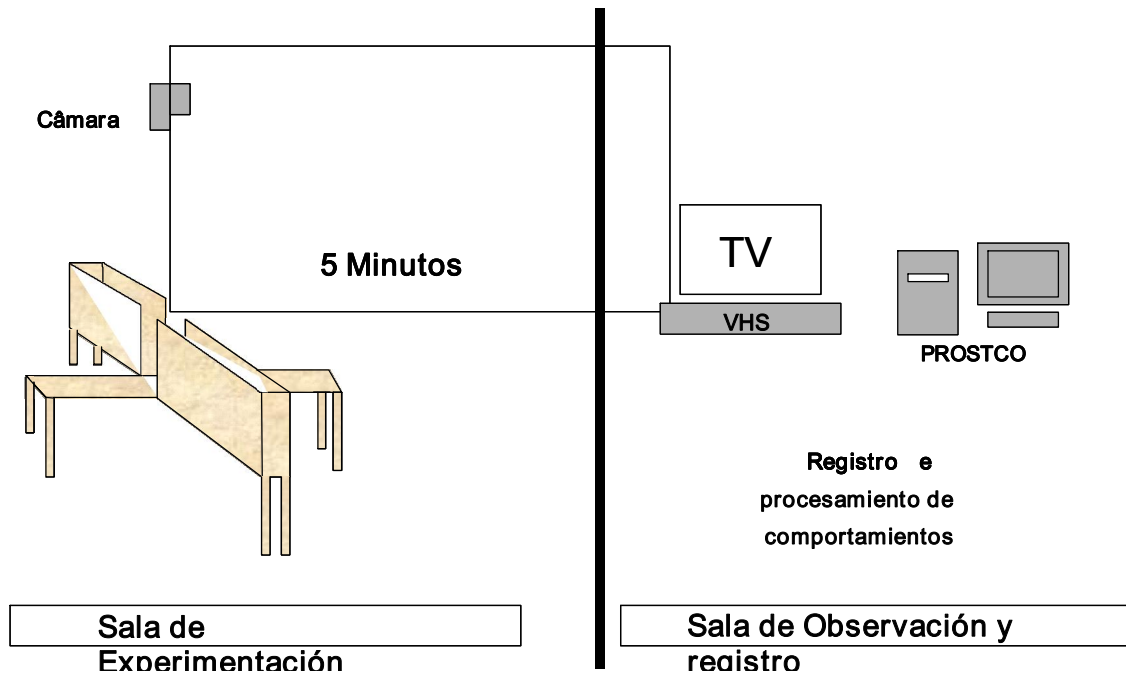
Anexo 3



Anexo 4



ANEXO 5



División virtual del CLCE