

**Evaluación de manifestaciones comportamentales de tipo anhedonia y
desesperanza aprendida en ratas sometidas al aislamiento social crónico.**

Asesor: Ps., PhD. Silvia Botelho de Oliveira

Coinvestigador: MD, PhD. Carlos Conde

Estudiantes de Psicología:

Jose Manuel Rodríguez Camargo

Paola Andrea Santos Núñez



UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

FLORIDABLANCA

2009

**Evaluación de manifestaciones comportamentales de tipo anhedonia y
desesperanza aprendida en ratas sometidas al aislamiento social crónico.**

Estudiantes de Psicología:

Jose Manuel Rodríguez Camargo

Paola Andrea Santos Núñez

Asesor: Ps., PhD. Silvia Botelho de Oliveira

Coinvestigador: MD, PhD. Carlos Conde

Proyecto de grado para optar al título de Psicólogo



UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

FLORIDABLANCA

2009

Nota De Aceptación

Presidente Del Jurado

Floridablanca, _____

Índice de contenidos

Resumen	8
Abstract	9
Justificación	10
Objetivos	
General	11
Específicos	11
Planteamiento del problema	11
Hipótesis	14
Referente conceptual	
Depresión	14
Estrés	18
Modelos animales	20
Aislamiento	22
Desesperanza aprendida	23
Anhedonia	26
Metodología	
Diseño	29
Sujetos	29
Instrumentos	30
Procedimiento	
Protocolo de la secuencia de la prueba: NF + CS	32
Protocolo de la secuencia de la prueba: CS + NF	34

Análisis de datos	35
Resultados	36
Discusión	44
Conclusiones	55
Recomendaciones	55
Referentes bibliográficos	57

Índice de Gráficas

Gráfica 1. Consumo de Sacarosa en el segundo día de exposición a la prueba de consumo de sacarosa.

Gráfica 2. Efecto de la condición de alojamiento y de la secuencia de prueba sobre el consumo total (CST) de sacarosa (promedio de los cuatro días).

Gráfica 3. Efecto de la condición de alojamiento y de la secuencia de prueba sobre el peso de las glándulas adrenales.

Índice de Tablas

Tabla 1. Análisis de Correlación de Spearman entre las variables comportamentales evaluadas.

Tabla 2. Regresiones Múltiples entre peso de la glándula, secuencia de la prueba y condición de alojamiento.

Tabla 3. Regresiones Múltiples entre peso de la glándula y consumo del día 2.

Resumen

Evaluación de manifestaciones comportamentales de tipo anhedonia y desesperanza aprendida en ratas sometidas al aislamiento social crónico.

AUTORES: Jose Manuel Rodríguez Camargo y Paola Andrea Santos Núñez

FACULTAD: Psicología

DIRECTOR: Silvia Botelho de Oliveira.

Considerando la importancia de apoyar la hipótesis de que el aumento en el consumo de solución de sacarosa más concentrada (32%) producido por el aislamiento social crónico también está asociado a una baja sensibilidad a la recompensa ó a un aumento en los umbrales de refuerzo positivo como indicador de comportamiento de “tipo anhedonia”, el objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos comportamentales de tipo “anhedonia” y “desesperanza aprendida” en ratas sometidas al aislamiento social crónico. Ratas Wistar machos (n=71) fueron sometidas a 21 días de aislamiento social o en grupo y evaluadas en las pruebas de consumo de sacarosa (CS) y nado forzado (NF) en dos protocolos experimentales donde se varió la secuencia de exposición a ambos modelos (secuencia CS+NF y secuencia NF+CS). De manera general, las ratas sometidas a aislamiento social crónico consumieron más de la solución de sacarosa al 32% que los animales alojados en grupo y presentaron un mayor peso de las glándulas adrenales cuando éstas fueron pesadas inmediatamente después de la exposición al modelo del nado forzado (secuencia CS+NF). Sin embargo, con base en los resultados utilizados para el análisis comportamental en el modelo del nado forzado, hasta el momento no se puede concluir nada en relación con los indicadores de desesperanza aprendida.

Palabras Clave: Depresión, Desesperanza aprendida, Anhedonia, Aislamiento social y Estrés.

Abstract

Evaluation of behavioural manifestations of “anhedonia type” and “learned hopelessness” in rats subjected to the chronic social isolation.

AUTHORS: Jose Manuel Rodríguez Camargo y Paola Andrea Santos Núñez

FACULTY: Psychology

MANAGER: Silvia Botelho de Oliveira.

Considering the importance of supporting the hypothesis that increased in the consumption of concentrated sucrose (32 %) produced by the chronic social isolation is also associated with a low sensitivity to the reward or a an increase in the threshold of positive reinforcement as an indicator of behavior " anhedonia type ", the objective of the present study was to assess the behavioral effects "anhedonia type" and "learned despair" in rats subjected to chronic social isolation. Wistar rats males (n = 71) were subjected to 21 days of social isolation or housed in group and evaluated in the consumption of sucrose and in the forced swimming test on two experimental protocols varied the sequence of exposure both models. The rats subjected to chronic social isolation consumed more of sucrose solution 32 % that animals are housed in group and presented greater weight adrenals glands when they were heavy immediately after exposure to the forced swimming model. However, based on the results used for the behavioral analysis in the forced swimming model it can't conclude nothing under indicators of despair learned.

Keywords: Depression, learned hopelessness, anhedonia, social isolation and stress.

Justificación

Actualmente, los trastornos depresivos representan un problema de salud pública, con una morbilidad poblacional del 5% en estadísticas mundiales (Montes, 2004). En Colombia, estudios epidemiológicos han demostrado que un 11.8% de la población padece depresión leve y que el 4% muestra depresión mayor (moderada o grave) (Gómez et al. 2004), cifras que resultan ser alarmantes demandando la intervención profesional.

El trastorno depresivo según el *National Institute of Mental Health* (2004), afecta el organismo (cerebro), el ánimo, la forma en que una persona come y duerme; afecta cómo el individuo se valora a sí mismo (autoestima) y la forma en que éste piensa. Sin tratamiento, los síntomas pueden durar semanas, meses e incluso años. Por lo tanto, padecer de este trastorno implica compromiso tanto de la salud física como emocional de las personas, lo que sumado a su alta prevalencia lo posiciona como un trastorno de gran injerencia sobre los indicadores de salud pública.

Dada la multiplicidad de factores genéticos, biológicos y psicosociales que se interponen en su origen, la depresión se caracteriza por ser un trastorno de etiología compleja (Montes, 2004), lo que probablemente explicaría que los mecanismos subyacentes a este trastorno aún sean poco elucidados. Por lo tanto, es importante realizar investigaciones que utilizando herramientas efectivas y confiables que puedan aportar a la comprensión de los mecanismos neurobiológicos asociados a esta patología, objetivando con esto contribuir al tratamiento y mejoramiento de la calidad de vida de quienes la padecen.

Con la realización del presente trabajo se aportará, además, a la formación de jóvenes investigadores y a la consolidación de una de las líneas de investigación del grupo de Neurociencias titulada “Evaluación de modelos animales de ansiedad y de depresión”, la cual será una de ofrecidas en el programa de maestría propuesto, por la Facultad de Psicología de la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga, para iniciar el en segundo semestre del 2010.

Objetivos

General

Evaluar los efectos comportamentales de tipo “anhedonia” y “desesperanza aprendida” en ratas sometidas al aislamiento social crónico.

Específicos

1. Evaluar el efecto del aislamiento social crónico sobre el consumo de solución de sacarosa al 32% en ratas.
2. Evaluar el efecto del aislamiento social crónico sobre manifestaciones comportamentales de desesperanza aprendida de ratas sometidas al modelo de Nado Forzado.
3. Correlacionar la preferencia por el consumo de agua pura o de una solución sacarosa al 32% y el desempeño en el Nado Forzado de ratas sometidas al aislamiento social crónico.
4. Comparar el peso de las glándulas adrenales de ratas aisladas socialmente y agrupadas.

Planteamiento del problema

Las Neurociencias se han encargado de comprender los mecanismos subyacentes y los posibles tratamientos de una diversidad de problemas de salud mental que afectan la calidad de vida del ser humano. Entre ellos, uno de los que hoy en día acomete la población general son los trastornos del estado de ánimo, cuya alta prevalencia mundial y nacional ha impactado la salud pública en general (Montes, 2004; Gómez et al. 2004). Los trastornos depresivos se caracterizan por sentimientos exagerados de tristeza, melancolía, abatimiento, disminución de la autoestima, desesperanza y pérdida de interés y placer (anhedonia), entre otros (DSM-IV-TR, 2002). Para su diagnóstico clínico se requiere de la presencia de cinco o más de los síntomas depresivos por un período de dos semanas y depende de la presencia de dos síntomas cardinales: el bajo humor persistente y la pérdida de interés o placer en actividades usuales (anhedonia) (Frick, 2004).

El interés por estudiar este trastorno se ha determinado por un abordaje interdisciplinar en la cual se destaca la utilización de modelos animales, teniendo en cuenta las similitudes estructurales y funciones cerebrales de éstos con el organismo humano (Gómez, Saldivar

& Rodríguez, 2002). Dentro de este abordaje se han logrado avances en cuanto al diagnóstico y tratamiento de los trastornos depresivos. Sin embargo, una de las dificultades encontradas en los diferentes estudios consiste en poder modelar los síntomas primarios de la depresión. Según McKinney y Bunney (1969), el término depresión se constituye en un síndrome caracterizado por la presencia de síntomas primarios, tales como humor deprimido y desespero emocional, y secundarios, como aislamiento social, retardo psicomotor, anorexia, pérdida de peso y disturbio del sueño. Como no es posible evaluar objetivamente los síntomas primarios de la depresión en animales, la salida sería utilizar el término depresión en un sentido operacional para referirse a las alteraciones comportamentales observables que son comúnmente asociadas con depresión en humanos, o sea, los síntomas secundarios (Botelho & Conde, 2001). Esta misma idea fue compartida posteriormente por Paul Willner (1990), quién además de coincidir que no es posible evaluar los síntomas primarios, pero sí los secundarios, sugirió la importancia de evaluar estados motivacionales como la insensibilidad a la recompensa y persistencia disminuida (desesperanza aprendida).

De esta manera, considerando el valor apetitivo y, por ende, de reforzador primario de soluciones dulces, el consumo de sacarosa ha sido utilizado para evaluar la respuesta hedónica en roedores. En este contexto, la anhedonia ha sido definida operacionalmente como una baja sensibilidad a la recompensa o un incremento en los umbrales de refuerzo positivo, lo que ha sido asociado en la mayoría de los estudios como un decrecimiento en el consumo de bajas concentraciones (0.1% y 2%) de sacarosa (Kompagne et al. 2008). Sin embargo, dicha definición aún no está de todo fundamentada conceptualmente ya que, en algunos estudios, se ha reportado que la exposición a estresores crónicos produce un aumento en el consumo de soluciones de sacarosa altamente concentradas (por ejemplo 32%) (Hall, Humby, Wilkinson & Robbins, 1997; Sammut, Bethusb, Goodallb & Muscata, 2002). Particularmente, en estudios anteriores realizados en nuestro laboratorio (Botelho, Martínez, & Conde, 2008; Cortez, Conde & Botelho, 2005) se ha demostrado sistemáticamente que el aislamiento social crónico aumenta la preferencia por el consumo de soluciones más concentradas (32%), lo que ha contribuido a la hipótesis de que el aumento del consumo de soluciones altamente concentradas de sacarosa está asociado también a una baja sensibilidad a la recompensa o un incremento en los umbrales de refuerzo positivo, lo que sugiere la importancia del valor recompensante que cada solución

tiene. Sin embargo, aun no se tiene evidencias de que este perfil de consumo esté asociado a otro indicador de depresión experimental.

Si bien existen controversias con respecto a los resultados derivados de la utilización de la prueba consumo de sacarosa y, por ende, en la definición operacional de anhedonia en este modelo, diversos estudios han utilizado el modelo de nado forzado para evaluar la desesperanza aprendida (indefensión aprendida), un otro síntoma determinante en el diagnostico de la depresión. En este modelo, la postura de inmovilidad del animal en el agua ha sido utilizada como un índice de desesperación y depresión del humor (Porsolt, 1977 citado por De Pablo & Guillamon, 1992), así como la actividad vigorosa ha sido interpretada como indicador del esfuerzo por escapar (Kitada, Miyauchi, Kossasa & Satoh, 1983). A pesar de que una de las críticas a este modelo consiste en la poca objetividad en la evaluación de inmovilidad como indicador de desesperanza aprendida (Borsini & Meli, 1988) y la influencia de diferentes características metodológicas sobre el comportamiento de inmovilidad, tales como la edad y el peso de los animales entre otras (Yates, Panksepp, Ikemoto, Nelson & Conner, 1991), muchos estudios lo han utilizado para probar fármacos antidepresivos y para la comprensión de la neurobiología del trastorno depresivo con resultados muy satisfactorios.

Considerando la controversia de resultados con respecto al consumo de sacarosa como indicador de perfil anhedónico en ratas y que la desesperanza aprendida ha sido utilizada clásicamente como indicador de comportamiento de “tipo depresivo” en roedores, en el presente estudio se pretendió evaluar comportamientos de tipo anhedónico y desesperanza aprendida en ratas sometidas al aislamiento social crónico para dar respuesta a las siguientes preguntas:

1. ¿Ratas sometidas al aislamiento social crónico consumen más de la solución de sacarosa 32% que los animales alojados en grupo?
2. ¿Ratas sometidas al aislamiento social crónico presentan mayores manifestaciones de desesperanza aprendida en el modelo del nado forzado que los animales alojados en grupo?
3. ¿Existe correlación entre el consumo de sacarosa 32% y desesperanza aprendida en ratas sometidas al aislamiento social crónico?
4. ¿Existe diferencia en el peso de las glándulas adrenales entre ratas sometidas al aislamiento social crónico y alojadas en grupo?

Hipótesis

1. Si un trastorno depresivo se caracteriza por una disminución en los comportamientos de preservación del individuo y esto también incluye una baja sensibilidad a la recompensa, en un cuadro depresivo ya instalado deberían coexistir los indicadores de anhedonia y desesperanza aprendida.
2. Si un cuadro depresivo ya instalado se asocia a un incremento en los umbrales de refuerzo positivo, y si la exposición a estímulos reforzadores de magnitud adecuada (de alta intensidad para el depresivo) tiene efectos compensatorios, el suministro de sacarosa al 32% post-alojamiento individual, debería disminuir las manifestaciones de desesperanza aprendida.

Referente Conceptual

Depresión

De acuerdo con el National Institute of Mental Health (2004), el trastorno depresivo es una enfermedad que afecta el organismo (cerebro), el ánimo y la manera de pensar. No se caracteriza por un estado pasajero de tristeza ya que, sin tratamiento, los síntomas pueden durar semanas, meses e incluso años. Desde el punto de vista sintomatológico, la depresión está asociada con un estado de ánimo deprimido o irritable, pérdida del interés o capacidad para experimentar el placer en todas o casi todas las actividades habituales (anhedonia), pérdida o aumento significativo de peso o del apetito, insomnio o hipersomnia, agitación o enlentecimiento psicomotor, fatiga o pérdida de energía, sentimiento excesivo de inutilidad o culpa, disminución de la capacidad de pensar y concentrarse, ideas repetidas de muerte, ideas o actos suicidas (DSM IV - TR, 2002). Por lo anterior, el desorden depresivo consiste en una colección de síntomas, los cuales juntos constituyen una condición clínica reconocible, cuyos síntomas cardinales son: bajo humor persistente y pérdida de interés o placer en actividades usuales (anhedonia) (Argyroupoulos & Nutt, 1997; Auriacombe, Reneric & Le Moal, 1997; Frick, 2004).

La depresión mayor representa un problema de salud pública. Según estudios recientes, afecta a la población general, de diferentes culturas y estratos sociales; ataca de modo indistinto a personas de ambos sexos, (con predilección por el femenino: 9,5% vs. 5,8%)

(Escudero, 2006). Este trastorno, está asociado con un alto nivel de mortalidad (Chen et al. 2008) y una prevalencia del 15 al 25% según la Organización Mundial de la Salud (OMS), afectando, principalmente, al grupo de adolescentes y adultos mayores (Olmedo, Torres, Velasco, Mora & Blas, 2006). Estas cifras son alarmantes, lo que demanda la intervención profesional. Adicionalmente, es una condición patológica que amerita atención inmediata, ya que puede evolucionar desfavorablemente, trayendo consecuencias graves como el suicidio y la disfunción sociofamiliar (Montes, 2004).

Aunque los desórdenes depresivos están entre las enfermedades humanas más comunes y, a pesar de la investigación clínica y preclínica concertada, los procesos neurobiológicos subyacentes a la depresión no han sido comprendidos por completo. Dada la alta tasa de incidencia de esta neuropatología, es importante comprender las alteraciones asociadas a este desorden psiquiátrico y los mecanismos etiológicos a él asociados (Frick, 2004), tanto genéticos, biológicos como psicosociales.

Desde el punto de vista biológico la depresión está asociada a alteraciones neuroendocrinas, modificaciones neuroanatómicas y desarreglos de interacción entre los sistemas inmune y neuroendocrino (Montes, 2004). Adicionalmente, está relacionada con una disminución en el sistema nervioso central de las aminas biógenas serotonina, noradrenalina y dopamina a nivel del sistema nervioso central, importantes en la fisiopatología de la depresión (Guadarrama, Escobar & Zhang, 2006; Rot, Mathew & Charney, 2009). Así mismo, en este trastorno, se destaca la participación de los receptores GABAérgicos del núcleo septal lateral, en donde coexisten con los receptores de benzodiazepinas (Gutiérrez, Contreras & Díaz, 2000), lo cual resulta interesante porque el núcleo septal forma parte de las estructuras relacionadas con el hedonismo (Gutiérrez & Contreras, 2008) y ha sido propuesto como uno de los sitios blanco de la acción de los fármacos con acción antidepressiva (Gutiérrez et al. 2000).

Adicionalmente, la depresión se asocia con signos de alteración hipotalámica (Montes, 2004) que se manifiestan en una excesiva secreción de corticotropina (ACTH) por la hipófisis, induciendo aumento de la secreción de cortisol por la corteza suprarrenal, por ende, en algunos pacientes deprimidos se puede observar aumento del tamaño de la glándula suprarrenal. El aumento de la secreción de cortisol es el resultado final de la hipersecreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el hipotálamo, el cual aumenta los niveles de ACTH, con las consecuencias ya mencionadas; por lo tanto, niveles

de CRH se correlacionan con la depresión, y la liberación de esta hormona es estimulada por la noradrenalina y la adrenalina. Por esta razón, se infiere que la CRH y el sistema noradrenérgico se refuerzan entre sí (Owens & Nemeroff, 1994). En concordancia, el locus coeruleus, principal sitio de origen de la amplia inervación noradrenérgica para la mayor parte del sistema nervioso central, tiene conexiones con la amígdala, la formación hipocampal y la corteza prefrontal, estructuras cerebrales implicadas en la neuroanatomía del trastorno depresivo. También se destaca que la corteza prefrontal tiene extensas conexiones con otras regiones involucradas en la conducta emocional, como el núcleo amigdalino, el hipotálamo lateral, el núcleo accumbens (Duman, Heniger & Nestler, 1997) y los sistemas noradrenérgicos, serotoninérgicos y dopaminérgicos del tronco encefálico; las personas con lesiones en estas áreas presentan dificultades para experimentar las emociones.

Particularmente, estudios de neuroimagen indican que los individuos con episodios recurrentes de depresión mayor, pueden tener relativamente pequeño el hipocampo incluso durante los períodos de remisión clínica. Episodios depresivos recurrentes y la falta de tratamiento antidepresivo podrían contribuir a la reducción progresiva del volumen del hipocampo, que a su vez puede explicar los cambios de memoria en algunos pacientes, así como otros síntomas de este trastorno. Las personas depresivas también pueden presentar anomalías volumétricas en otras regiones subcorticales del cerebro, incluyendo la amígdala y el estriado ventral, y en regiones corticales, como la corteza cingulada anterior, la corteza orbitofrontal y la corteza prefrontal (Rot et al, 2009).

Cada vez es mayor el interés de identificar los factores relacionados con la herencia que ayuden a explicar la compleja etiología de las distintas enfermedades psiquiátricas. Sin embargo, a pesar de la amplia utilidad de este tipo de investigaciones, la contribución de la genética en la etiología de los trastornos depresivos no ha podido alcanzar resultados concluyentes (López, 2000). Sin embargo, se ha observado mayor prevalencia de depresión mayor, trastorno bipolar y ansiedad, en personas con antecedentes familiares en comparación con aquellas que no los tienen, lo cual supone la existencia de posibles causas relacionadas con la transmisión de determinadas alteraciones genómicas (López, 2000). Por ende, los genes pueden predisponer a los individuos para el trastorno depresivo mayor en muchos aspectos, ya que controlan el metabolismo de los neurotransmisores y sus receptores, el número de ciertos tipos de neuronas y sus conexiones sinápticas, la

transducción intracelular de señales neuronales y la velocidad con que todas éstas pueden cambiar en respuesta a los estresores del medio ambiente (Rot et al, 2009).

En concordancia, estudios realizados durante más de 70 años, han demostrado que existe un riesgo mayor de presentar la enfermedad en los familiares de primer grado (López, 2000). Aunque se han realizado otros estudios en familias para definir si existen subtipos de depresión, y analizar si alguno de ellos posee una mayor asociación familiar, hasta el momento no se ha identificado un subtipo en especial. Sin embargo, los estudios de asociación han reportado relación con el gen transportador de la serotonina en el cromosoma 5HTT y otros con el receptor D4 de la dopamina, pero estos hallazgos no han podido ser replicados en forma consistente (López, 2000; Rot et al, 2009). De acuerdo con lo anterior, se sugiere establecer estudios que profundicen en tales aspectos, teniendo en cuenta que se han establecido avances en cuanto a la genética de la Depresión y su participación en dicho trastorno.

No menos importantes son los factores psicosociales en la manifestación del trastorno. En este sentido, se ha observado que los primeros episodios depresivos aparecen luego de algún acontecimiento estresante, y el estrés que acompaña al primer episodio produce cambios a largo plazo en la biología cerebral (Montes 2004). A su vez, algunos estudios sugieren que el estrés desempeña un papel importante en la génesis de la depresión, siendo la edad y el sexo de las personas afectadas probables factores moduladores en el proceso (Frick, 2004; León, 2007).

De acuerdo a lo mencionado, dependiendo del factor causal de esta patología podemos encontrar dos tipos de depresión: la depresión endógena, caracterizada por el predominio de factores biológicos, donde suelen incidir antecedentes previos personales y familiares; es de carácter episódico y se asocia a síntomas de profunda tristeza, inhibición psicomotriz y a ideas de ruina y autoreproches, culpa y riesgo de suicidio (Rudeler, 1999). Por otro lado, según Zaretsky et al. (1997) tratando de diferenciar la depresión exógena de la endógena, atribuyeron a la primera la característica de ser preponderantemente reactiva, o sea, los pacientes con depresión exógena reaccionan a los estímulos psicosociales del ambiente en general de manera disfuncional. Como la reactividad no es el “disparador” más importante en la depresión endógena, sugirieron que esta característica era útil para distinguir ambas clases de depresión, considerándose la depresión exógena como una depresión reactiva. Sin embargo, Coello (1980), destaca que con el tiempo este concepto se

ha distorsionado y la depresión reactiva ha sido considerada como aquella inducida por factores psicosociales del ambiente.

Estrés

El término estrés deriva del vocablo inglés *stresse*, usado durante la Edad Media para denotar el sufrimiento y pobreza de las personas; *stresse* a su vez, tiene su origen en los vocablos *destresse* y *estrece* del francés antiguo, ambos con significados de opresión, dolor y sufrimiento. En 1936, Hans Selye citado por Bruner y Vargas, (1994) introdujo el término estrés al campo de las ciencias biológicas para denotar un síndrome producido por diversos agentes nocivos, cuya finalidad era promover la adaptación del organismo a su medio cambiante. Actualmente, se considera que el concepto estrés denota la relación que existe entre estímulos aversivos que perturban gravemente la homeostasis del organismo y las respuestas fisiológicas y conductuales de este, ante la estimulación nociva (Bruner & Vargas, 1994; Henningsen et al. 2009; Kim & Diamond, 2002; McEwen, 2005).

Es importante destacar que en situaciones en donde el organismo detecta un estímulo como amenazante, se recurre a establecer una evaluación cognoscitiva o perceptual en la que el individuo compara experiencias previas consideradas como potencialmente peligrosas (Moscoso, 1998) y, en el mejor de los casos, elabora un plan y toma una decisión. De lo anterior surge una respuesta de afrontamiento denominada “eustrés” que permite al organismo adaptarse y sobrevivir, por lo tanto representa un beneficio para quien lo experimenta. Por el contrario, el “distrés” se caracteriza por un contenido emocional de experiencias aversivas y el estado emocional resultante provoca un efecto nocivo para el individuo (Jiménez, Gutiérrez, Domínguez, & Contreras, 2008). Sin embargo, otros autores simplemente consideran que el estrés es necesario para afrontar cualquier situación que ponga en riesgo la vida de una persona, pero que puede llegar a tener un efecto perjudicial si éste es constante (McEwen, 2005; McEwen & Stellar, 1993; Schulkin, McEwen & Gold, 1994).

El afrontamiento y la reacción a los estímulos aversivos del ambiente dependen de cada persona, su biología, genética y factores psicosociales, así como de la intensidad del estímulo estresor. El estrés agudo puede ser definido como un proceso que lleva a interpretar y evaluar la amenaza, el daño o la demanda en general, pero si la exposición al

agente estresante es excesiva, repetitiva y prolongada en el tiempo, como sucede en el estrés a largo plazo, la permanencia de los mecanismos adaptativos (alostasis), transforma un mecanismo protector y de ajuste transitorio en otro con alto poder patogénico (McEwen, 2005). Por lo tanto, cuando estos estímulos se prolongan, son intensos e incontrolables pueden llegar a desencadenar un desorden físico o psicológico (Jiménez et al. 2008).

El estrés ha sido implicado en la iniciación, el desencadenamiento, el mantenimiento e incluso la exacerbación de desórdenes psiquiátricos específicos. Se sabe que la exposición al estrés crónico tiene efectos negativos en las funciones cognitivas (McEwen, 1999, 2000), además de ser un factor capaz de desatar episodios depresivos en humanos (Duman, et al. 1997). Así mismo, el estrés es capaz de producir un amplio rango de efectos fisiológicos adversos en humanos debido a la activación de un amplio espectro de sistemas neuronales y hormonales (Frick, 2004; Ursin & Olf, 1993) interviniendo sobre procesos fisiológicos, principalmente, de estructuras cerebrales relacionadas con las emociones (amígdala, hipotálamo, hipocampo, septum, corteza prefrontal, tallo cerebral, entre otras), la morfología neuronal y el comportamiento (Frick, 2004). Adicionalmente, conlleva a un deterioro de la capacidad de aprendizaje, memoria y efectos negativos en la plasticidad neuronal (Kim & Yoon, 1998; McEwen, 1999; 2000; McEwen & Sapolsky, 1995).

Particularmente, el estrés crónico ha sido considerado uno de los factores etiológicos más importantes de la depresión. En roedores, evoca una variedad de respuestas observadas en la depresión humana, como por ejemplo, la reducción en la latencia e incremento de la duración del sueño REM (Cheeta, Ruig, Van Proosdij & Willner, 1997; Moreau, Scherschlicht, Jenk & Martin, 1995), disminución de la actividad sexual (Brotto, Gorzalka & LaMarre, 2001; D'Aquila, Brain & Willner, 1994) e incremento de los niveles de corticosterona (Katz, 1981).

La hormona liberadora de la corticotropina (CRH) es uno de los factores más importantes involucrados en la respuesta de estrés y depresión (Rot et al, 2009). Las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo poseen axones que se proyectan a la capa externa de la eminencia media donde secretan la CRH. Esta, a su vez, estimula la secreción por la adenohipófisis de la hormona adrenocorticotropina (ACTH). La ACTH tiene como órgano blanco (receptor) la corteza de las glándulas adrenales, específicamente las porciones fasciculada y reticular, que en respuesta a la estimulación de la ACTH

secretan glucocorticoides en los animales (Morén, 2007) y el cortisol en humanos (Gómez & Escobar, 2006). De esta manera, la respuesta de estrés implica activación del sistema nervioso simpático con acción importante de las glándulas adrenales en las primeras etapas de una situación de emergencia, donde la medula adrenal aumenta la secreción de catecolaminas, más específicamente adrenalina y noradrenalina. Por su parte, la adrenalina aumenta la tasa cardíaca y respiratoria como también el flujo sanguíneo a los músculos, con lo que prepara al organismo para emitir respuestas de lucha o escape (Carlson, 1982). Cuando se producen situaciones amenazadoras y prolongadas el organismo se habitúa a ellas, pasando a una etapa de resistencia, en ese punto, entra en acción la corteza adrenal para resistir la situación a través de la secreción de glucocorticoides (Corsi, 2004).

De manera general, la respuesta al estrés comprende procesos fisiológicos, psicológicos y conductuales adaptativos activados en situaciones desafiantes, produciendo inmediatamente la activación del sistema nervioso vegetativo (glándulas adrenales, sistema cardiovascular, respiratorio, metabólico) y ciertos procesos en el sistema nervioso central (Mercier et al. 2003). Cuando estos estímulos se prolongan, son intensos e incontrolables pueden llegar a desencadenar un desorden físico o psicológico (Jiménez et al. 2008). En particular, se demostró que en algunos pacientes deprimidos se puede observar aumento del tamaño de las glándulas adrenales (Montes, 2004), así como en animales de experimentación (Grippe et al. 2005; Rygula, Abumaria, Domenici, Hiemke & Fuchs, 2005; Sánchez, 2002).

Modelos Animales

Para estudiar los mecanismos subyacentes de los trastornos psicopatológicos, los modelos animales cumplen un papel elemental, ya que resulta prácticamente imposible llevar a cabo la experimentación necesaria para comprender la etiología y posibles tratamientos eficaces, en los mismos pacientes (Botelho & Conde, 2001; Pinel, 2001). Por lo tanto, se hace necesario la utilización de los modelos de experimentación animal para la comprensión de la fisiopatología y farmacología de muchos trastornos (Botelho & Conde, 2001).

De manera general, los modelos animales han permitido a la ciencia descubrir métodos para contribuir al estudio de enfermedades y así prolongar la vida humana, respondiendo a

la dificultad de manipular variables que en un medio simplificado como el laboratorio, si es posible (Rodríguez, 2007). En este sentido, pueden proporcionar el grado de control experimental necesario para conducir una investigación neurocientífica (Treit, 1985), contribuyendo a las demandas de una sociedad que cada vez presenta un aumento en problemáticas de orden neuropsicológico y psicopatológico. Adicionalmente, considerando que la relación establecida durante el proceso evolutivo de los mamíferos permite estudiar algunas funciones superiores humanas normales y patológicas, los modelos animales permiten corroborar qué estructura y actividad cerebral se encuentran evolutivamente vinculadas en varias especies (Gómez et al. 2002).

Teniendo en cuenta la importancia de estudiar patologías tales como la depresión y las dificultades que se presentan al evaluar objetivamente los síntomas primarios de dicho trastorno en animales, la salida es utilizar el término depresión en un sentido operacional para referirse a las manifestaciones comportamentales observables que son comúnmente asociadas con depresión humana, esto es, los síntomas secundarios (Botelho & Conde, 2001). En particular, los modelos utilizados para el estudio de los mecanismos asociados a la depresión ofrecen oportunidades valiosas de ejercer control sobre variables que podrían influir en su etiología (Matthews & Robbins, 2003). Dichos modelos deben cumplir con algunos criterios de validación farmacológica de previsibilidad, semejanza y homología (Willner, 1990), los cuales se emplean de acuerdo a la demanda de la investigación y a los resultados que se quieran obtener. De lo anterior, es preciso explicar que la creación y construcción fundamentadas de los modelos animales tienen en cuenta características propias del animal que reflejen la patología, para así poder trasladar el análisis a la problemática humana.

En particular, el criterio de semejanza se refiere a la similitud entre el modelo y el desorden modelado (Willner, 1995; Willner, 1990), considerando la analogía en términos de etiología, sintomatología, tratamiento y bases biológicas de la depresión (McKinney & Bunney, 1969), así como la relación de los síntomas centrales más que secundarios (Abramson & Seligman, 1989). Por lo tanto, un modelo debe ser capaz de incluir uno de los síntomas centrales de la depresión como el *displacer* (anhedonia), además de los síntomas secundarios. Por ello, Willner (1990) resaltó la necesidad de evaluar estados motivacionales, insensibilidad a la recompensa (anhedonia) y persistencia disminuida (desesperanza) en animales.

Por otra parte, partiendo de la premisa que situaciones estresantes repetidas (estrés crónico) pueden generar respuestas características de la depresión, (García & Armario, 1986; Jiménez et al. 2008; Seligman & Beagley, 1975; Streklova, Spanagel, Bartsch, Henn & Gass, 2004), los modelos de estrés crónico moderado, han demostrado su eficacia en originar cuadros depresivos (Willner, 2005). De acuerdo con ello, la exposición de ratas de laboratorio a eventos altamente estresantes e incontrolables, se ha utilizado para inducir comportamientos asociados con depresión en humanos. Uno de los modelos considerablemente utilizados para inducir estrés crónico es el de separación social, el cual ha demostrado la influencia de algunos acontecimientos tempranos sobre el desarrollo y comportamiento posterior de los modelos de desesperanza aprendida, entre ellos el de Nado Forzado, el cual evalúa la persistencia disminuida (desesperanza aprendida).

Aislamiento Social

De manera general, el empobrecimiento social y ambiental tiene profundos efectos sobre la configuración de las respuestas comportamentales y fisiológicas en los animales, que viven en colonias como las ratas. Coherentemente, ha sido demostrado que el alojamiento individual en edad temprana, produce varios cambios comportamentales y neuroquímicos conocidos como síndrome de aislamiento social, el cual depende del sexo, edad y de varios estímulos ambientales (Lukkes, Mokin, Scholl, & Forster, 2009).

A nivel experimental, la privación social es una condición en la que el sujeto no tiene contacto con otros miembros de su especie. Ha sido utilizado en roedores como modelo animal para generar estrés (Weiss, Pryce, Jongen, Nanz-Bahr, & Feldon, 2004) produciendo cambios en sus sistemas emocionales (Becerra, 2003; Xiaohong et al. 2009). Desde el punto de vista del comportamiento, el aislamiento social incrementa el alertamiento de ratas aisladas entre 3 y 16 semanas, aumenta la agresividad (Becerra, 2003; Hilakivi, Ota & Lister, 1989) y produce déficits en tareas de aprendizaje y memoria espacial (Molina, Téllez & García, 2001). En machos adultos, potencia la interacción social (Arakawa, 2005; Lister & Hilakivi, 1988) y genera cambios en la endocrinología de estos animales (Sanchez, 1994).

Por lo tanto, el aislamiento social crónico induce un “síndrome comportamental de hiperactividad locomotora (Fulford & Marsden 1998; Garzón & Del Rio, 1981; Sánchez,

2002), un incremento de reactividad del animal, incluyendo la aparición de hiperfuncionalidad ante la novedad del ambiente (Sánchez, 2002; Vasar et al. 1993), aumento de la ansiedad y sensibilidad al ruido (Vasar et al, 1993).

De igual forma, se ha podido constatar que las alteraciones comportamentales, neuroendocrinas y neuroquímicas como consecuencia del aislamiento social a lo largo del proceso del desarrollo (antes del destete, o desde el momento del destete) y durante largos períodos de tiempo, son de carácter duradero e irreversible. Entre la primeras, se ha encontrado de forma consistente una agresividad de los animales aislados ante el manejo por parte del experimentador y un cambio en relación con la actividad adrenocortical (Hatch et al. 1964). Dentro de los cambios neuroquímicos evidenciados se puede encontrar, aumento de los niveles de dopamina (DA) en el córtex prefrontal medial y el volumen de 5-HT en el núcleo accumbens (Cilia, Reavill, Hagan & Jones, 2001; Weiss & Feldon, 2001). Adicionalmente, otros autores (Fulford & Marsden, 1998) hallaron un incremento de la DA en el cortex frontal de estos animales (Weiss, Feldon & Domeney, 1999) por tal razón, Yates et al. (1991) afirman que la depresión es inducida por aislamiento social, sumado a esto, ha sido aceptado desde trabajos previos hechos por Harlow y Harlow, (1962) citados por Yates et al. (1991). indicando que la fase inicial de separación comúnmente desarrolla síntomas aparentes de depresión clínica. Confirmando que estos cambios neuroquímicos evidenciados en las ratas aisladas, son producidos por el aislamiento social. Es por ello que, este se ha utilizado en animales como un buen modelo predictivo de la depresión humana (Alguacil, Álamo & Iglesias, 1996; Moreau, 1997; Willner, 1991). Por ello, la perdida social ha sido ampliamente considerada como el mayor vector en la génesis del trastorno depresivo en humanos (Willner, 1984). A favor de esto, Ishida, Mitsui, Nukaya, Matsumoto y Tsuji (2003), comparten la idea de que el aislamiento social y los cambios ambientales agudos son factores de riesgo en el desencadenamiento de la depresión.

Desesperanza Aprendida

La desesperanza es considerada un síntoma crucial de la depresión para su diagnóstico (DSM-IV TR). Se caracteriza por el desarrollo de actitudes pasivas ante situaciones a las que no se ve salida, conduciendo a un estado agudo de “desánimo conductual” que predispone a la depresión (Sánchez, Cuervo & Rey, 2005). Por su parte, Beck, Steer,

Kovacs y Garrison (1985), la definen como expectativas negativas con respecto al futuro, desamparo, así como conceptos excesivamente bajos de las propias capacidades, siendo éstos considerados aspectos centrales de comportamientos cognitivos para el desarrollo y persistencia de la depresión (Henkel, Bussfeld, Moler & Hegerl, 2002).

Partiendo del supuesto teórico de que los sentimientos de desesperanza e inutilidad son características centrales de la depresión clínica, Seligman y Beagley (1975) investigaron el sentimiento de inutilidad, utilizando una variante de aprendizaje en perros, quienes eran sometidos, dentro de un esquema pavloviano, a la administración de choques eléctricos dolorosos, pero no dañinos, sin disponer de ningún recurso que les permitiera evitar el choque; ante lo inescapable, los perros aprendían que nada de lo que hicieran evitaba recibir el choque. Los perros eran colocados en una jaula de dos compartimentos divididos por una barrera, donde uno de los compartimentos tenía el piso electrificado y el otro no, y la altura de la barrera permitía que los perros mediante un salto apropiado pudieran pasar de un compartimento al otro; los perros que no habían sido sometidos a choques eléctricos, comenzaron inmediatamente a correr desesperadamente de un extremo a otro de la jaula, aullando, orinaron y defecaron, hasta que por azar saltaron la barrera y así escaparon de las descargas eléctricas dolorosas. Posterior a repetidos ensayos, saltaban más pronto al lado no electrificado hasta que al cabo de varias exposiciones a la misma situación, saltaban al lado no electrificado tan pronto eran introducidos a la jaula, evitando exitosamente cualquier choque.

Contrariamente, los perros que habían sido sometidos previamente a choques inescapables, reaccionaban al principio como los otros, pero pronto dejaban de aullar, correr y saltar, se echaban en el piso y recibían pasivamente cuanto choque se les administraba, sin que esto cambiara en ensayos sucesivos. Para descartar que fuera el trauma en sí se sometió a perros al mismo número e intensidad de choques pero con la posibilidad de dar una respuesta capaz de evitarlos, y no desarrollaron la indefensión. Por consiguiente, Seligman en 1973 (citado por Fernandez, 2000) estableció la hipótesis de la indefensión aprendida siendo confirmada por otras investigaciones en gatos, ratas y también en seres humanos.

Con base en lo anterior, Seligman propuso que, al igual que en el ser humano, los animales expuestos a estímulos aversivos incontrolables, pierden la motivación para dar una respuesta adecuada y presentan déficits cognoscitivos que interfieren con un nuevo

aprendizaje y un abatimiento, tanto motor como emocional (Fernandez, 2000). De esta manera, Seligman y Beagley (1975) publicó en su libro "Helplessness" que la indefensión aprendida podría ser un buen modelo animal de la depresión humana.

De manera general, el término desesperanza implica un estado que se produce, frecuentemente, cuando se vuelven incontrolables los acontecimientos. A su vez, se entiende que un acontecimiento es incontrolable cuando, sin importar lo que se haga, éste seguirá ocurriendo (Gutiérrez & Contreras, 2008). Es así como también, Henkel et al. (2002) definieron la desesperanza como la expectativa de que ninguna acción puede controlar los resultados en el futuro, lo que finalmente conduce a la producción de los síntomas de desamparo.

De esta manera, el fenómeno de desesperanza aprendida está relacionado a los procedimientos de estrés incontrolable en los cuales los animales son expuestos a una secuencia variada de estresores que producen deficiencias en el comportamiento, además de respuestas fisiológicas como pérdida del apetito, disturbios del sueño y elevación en los niveles de corticosterona; dichas respuestas pueden ser revertidas por antidepresivos (Botelho & Conde, 2001). Por lo tanto, en la actualidad, existen varios modelos animales considerados como herramientas útiles en el estudio de la depresión que se incluyen dentro del paradigma de desesperanza. Entre ellos están el de estrés crónico como la exposición a choques eléctricos incontrolables, el de suspensión de la cola y el de nado forzado (Kalueff & Nutt, 2007).

La prueba de nado forzado, uno de los modelos más utilizado en el estudio de la farmacología y neurobiología de la depresión, surgió cuando Porsolt (1981) observaba la conducta de algunas ratas sometidas a una tarea de aprendizaje en un laberinto de agua que requería 10 minutos para escapar de él. Mientras la mayoría de animales encontraba la salida fácilmente, algunas otras después de nadar intensamente adoptaban una postura característica, flotando pasivamente en el agua, situación que pareciera simular una respuesta a lo inescapable. La prueba consiste en un instrumento que se utiliza para el ensayo con roedores que evalúa el comportamiento de desesperanza aprendida, diseñada en un principio como un modelo animal para probar fármacos antidepresivos (Porsolt, Bertin, Blavet, Deniel & Jalfre, 1979). El procedimiento usado originalmente con ratas consiste en introducir las ratas en dos sesiones diferentes (15 minutos en el primero y 5 en el segundo) en un cilindro lleno con agua, con un intervalo entre sesiones de 24 horas (Porsolt et al, 1979).

Los animales (como ratas, ratones y perros) sometidos a la situación de estrés inescapable durante la primera sesión, aprenden que esa situación carece de solución. Cuando son colocados nuevamente (segunda sesión) ante la situación aversiva, presentan déficits en el patrón de escape evidenciados por una postura de inmovilidad (Gutiérrez & Contreras, 2008), acompañada de déficits emocionales, hormonales y neuroquímicos (De Pablo & Guillamon, 1992).

Uno de los puntos más importantes en la utilización del modelo de nado forzado en el estudio de la depresión, está relacionado a la definición operacional de inmovilidad utilizada por los diferentes autores, lo que parece explicar la complejidad de resultados encontrados en la literatura. De acuerdo con West (1990), la inmovilidad no es más que un ahorro de energía en el que el animal la asume para su supervivencia, llegando a la conclusión que los comportamientos de inmovilidad en el cilindro con agua reflejan una habituación aprendida. En concordancia, Parra, Vinader-Caerols, Monleón y Simón (1999), sostienen que las ratas, en este paradigma de comportamiento, aprenden a ser inmóviles, considerando la inmovilidad como una respuesta adaptativa a la situación (Sillaber & Holsboer, 2004), donde los animales aprenden a mantener sus cabezas fuera del agua con un mínimo de gasto energético. Por otro lado, la inmovilidad ha sido atribuida a fatiga por De Pablo, Parra, Segovia y Guillamon (1988). Sin embargo, la definición más utilizada en la literatura es la descrita por Porsolt (1977) como una pérdida de motivación (Porsolt, 1977 citados por De Pablo & Guillamon, 1992). Por lo tanto es necesaria la realización de estudios que utilicen definiciones muy precisas para garantizar la objetividad de las evaluaciones, favoreciendo de esta manera, el alcance de datos confiables y reproducibles.

Anhedonia

Finalmente, considerando que un modelo de depresión debe incluir el estudio de uno de los síntomas cardinales de la depresión como displacer (anhedonia), en el presente trabajo se exploró también la insensibilidad a recompensa como una medida operacional de anhedonia.

El término anhedonia, fue usado originalmente por el psicólogo francés Théodule Ribot en 1886, para caracterizar la "ausencia del placer" (Citado por Auriacombe et al. 1997).

Sin embargo, el concepto ha sido definido operacionalmente de diferentes maneras, desde una “baja sensibilidad de recompensa ante estímulos habitualmente reforzantes” (Willner, 2005) hasta una definición más amplia designada como “pérdida de interés o placer (Kessler et al. 1994) comúnmente empleada en los criterios del DSM IV-TR (APA, 2002). A su vez, desde el punto de vista social, este síntoma ha sido definido como la capacidad disminuida para experimentar placer derivada de interacciones sociales (Brown, 2001).

De acuerdo con los modelos animales, se ha propuesto que la anhedonia puede ser inducida en roedores por estrés crónico (Harkin, Houlihan & Kelly, 2002; Katz 1981; Willner, Towell, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987), evidenciada en el decremento del consumo de bajas soluciones de sacarosa (0.1% y 2%) (Katz, 1981; Kompagne et al. 2008; Muscat, Papp & Willner, 1992). Sin embargo, en algunos casos se ha reportado que el aislamiento social crónico incrementa el consumo de soluciones altamente concentradas (32% y 34%) (Cortez et al. 2005; Hall et al. 1996; Martínez et al. 2008; Sammut et al. 2002).

Los déficits en el consumo de sacarosa han sido relacionados con una disminución en la sensibilidad para las recompensas (Muscat, Sampson, & Willner, 1990; Rygula et al, 2005; Willner et al. 1987) y esta idea va en favor de que el valor recompensante de un estímulo (incluyendo concentración de sacarosa) es influenciado por el aprendizaje de recompensa, incentivo e impacto hedónico (Dantzer, Wollman, Vitkovic & Yirmiya, 1999) coincidiendo con los resultados de estudios en los que se han utilizado la estimulación intracraneal, demostraron que el estrés disminuye la sensibilidad a las recompensas (Bogdana & Pizzagalli, 2006), evidenciándose la relación entre el estrés crónico y el síntoma de anhedonia.

Por lo tanto, a pesar de que no son muchos los estudios que han demostrado el incremento en el consumo de sacarosa de ratas sometidas al estrés crónico (Cortez et al. 2005; Hall et al. 1996; Martínez et al. 2008; Sammut et al. 2002), estos resultados sugieren 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 consumir menos y, por el contrario, soluciones más concentradas favorecen su consumo. De esta manera, para el animal “anhedónico” el valor recompensante de la sacarosa 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 (Willner, 2005).

Fortaleciendo lo anteriormente expuesto, Phillips y Barr en 1997, usando un esquema de reforzamiento progresivo (RP), en el cual supuestamente los animales deben aumentar el número de respuestas operantes para alcanzar una cantidad fija de recompensas, evidenciaron una significativa reducción en el número de respuestas emitidas para consumir una solución de sacarosa del 0,7% en relación a las emitidas para recibir una solución del 7%. De igual manera, Brennan, Roberts, Anisman y Merali, (2001) demostraron que ratas responden dentro de este esquema de reforzamiento progresivo (RP) de manera concentración-dependiente, o sea, emiten mayor número de respuestas a medida que aumenta la concentración de la solución (de 0 a 20%). Estos resultados sumados a los anteriormente discutidos, fortalecen el supuesto del bajo valor recompensante que poseen las soluciones de menor concentración de sacarosa. Entretanto, los autores advierten que se deben tener precauciones con la utilización de paradigmas de entrenamiento operante para evaluar cambios en los niveles de incentivo motivacional en modelos animales de depresión.

Algunos autores como Van Praag et al. (1990) han estudiado la neurobiología del síntoma anhedónico y sugieren que la insuficiencia noradrenérgica en el núcleo septal lateral es la responsable de la incapacidad de sentir placer, ya que este núcleo responde a los tratamientos antidepresivos e interviene en el control de diversos estados emocionales caracterizados por ansiedad y miedo (Gutierrez et al. 2000). Además, contiene receptores de diversos mediadores químicos, hormonas esteroidales y neuroesteroides (Gutiérrez & Contreras, 2008). También se ha encontrado que la anhedonia tiene correlación con la apatía, resultante del déficit de la conexión de los ganglios basales con el córtex frontal (Sano, 1991). Otros estudios demuestran la importancia de la función de la Dopamina (DA) dentro del sistema de recompensa, siendo estos centros en el sistema nervioso central los que obedecen a estímulos específicos y naturales, regulados por neurotransmisores, permitiendo que el individuo desarrolle conductas aprendidas que responden a hechos placenteros o de desagrado (Hall et al. 1996). Así mismo, considerando que este sistema es activado por las recompensas (Heffner, Zigmond & Stricker, 1977; Hernandez, Guzman & Hoebel, 1991; Hernandez & Hoebel, 1988; Phillips, Blaha, & Fibiger, 1989), la función mesolímbica dopaminérgica ha sido implicada en el consumo de estímulos placenteros (Masi et al. 2001; Wang et al. 2004), siendo crucial para los efectos reforzantes,

incluyendo el refuerzo simulado del cerebro por drogas recompensantes y comida (Hernandez et al, 1991).

Por lo tanto, la prueba de consumo de sacarosa ha sido utilizada para evaluar los procesos neurobiológicos subyacentes al síntoma anhedónico (Rygula et al. 2005; Sammut et al. 2002; Willner, 2005) ya que, el consumo de sacarosa altera el metabolismo de la glucosa, el cual puede llegar a afectar áreas que están relacionadas con el estrés, la ansiedad y la depresión (Pizzagalli et al. 2004).

Considerando la complejidad de los mecanismos asociados a los procesos depresivos y la discrepancia de los resultados de estudios anteriores realizados en nuestro laboratorio que demuestran que la anhedonia está asociada con un elevado consumo de soluciones de sacarosa altamente concentradas, el presente estudio pretendió evaluar los efectos comportamentales de tipo “desesperanza aprendida y anhedonia” en ratas sometidas al aislamiento social crónico.

Metodología

Diseño

Para el presente estudio se implementó un diseño experimental de tipo correlacional bajo un enfoque cuantitativo, que buscó evaluar los efectos comportamentales de tipo “anhedonia” y “desesperanza aprendida” en ratas sometidas al aislamiento social crónico. Tomando como el tipo de alojamiento (alojamiento individual o alojamiento en grupo) y la secuencia de exposición a la pruebas a la cual los animales fueron expuestos (nado + consumo, consumo + nado) como variables dependientes, y el desempeño en las pruebas de Consumo de sacarosa y la prueba de nado forzado como variables independientes.

Sujetos

Se utilizaron 71 ratas Wistar machos provenientes del biotério de la Universidad Industrial de Santander con un peso aproximado de 180 a 240 gramos (gr.). Los sujetos fueron manipulados de acuerdo a los criterios éticos de experimentación animal (Ley 84 de diciembre de 1989, artículo 23). Antes de cualquier manipulación, los animales tuvieron que pasar por un periodo de habituación de 3 días en el biotério de la Universidad

Pontificia Bolivariana (UPB) alojados en grupos de seis por caja. Los animales fueron sometidos a las condiciones experimentales de alojamiento (alojamiento individual o alojamiento en grupo) 21 días antes de la primera sesión experimental. En el biotério se mantuvo un esquema de luminosidad controlada (ciclo de 12 horas claro/oscuras), y una temperatura ambiente de 22°. Durante su permanencia en el laboratorio, las ratas tuvieron acceso libre a comida y agua, fueron manipuladas únicamente, según las necesidades de suministro de comida y aseo cotidiano.

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 aislados socialmente).

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 (3 días) a las condiciones del laboratorio y también para el alojamiento de los animales controles (grupo de animales alojados en grupo).

Prueba de Nado Forzado: El aparato original consiste de un cilindro de acrílico con 40 cm. de altura y 18 cm de diámetro. Originalmente, el cilindro debe estar lleno de agua hasta los 15 cm. de su altura total, a una temperatura de 32° C. (Porsolt, 1977 citado por Borsini & Meli, 1988). No obstante, para efectos del presente estudio, el cilindro estuvo lleno de agua hasta los 25 cm. de su altura total, a la temperatura de 32° C. En este paradigma, las ratas son forzadas a nadar y se busca generar “desánimo conductual”, evidenciado por comportamientos de inmovilidad (Porsolt, Bertin & Jalfre, 1977). En un primer momento el animal es expuesto a la prueba durante 15 minutos, período utilizado como estresor y para que el animal aprenda que su esfuerzo es innecesario para escaparse de la situación experimental, 24 horas después, el animal es re-expuesto durante 5 minutos y se registran los comportamientos de inmovilidad y de escape. La inmovilidad es definida operacionalmente como aquellos episodios en los que el animal realiza únicamente los movimientos necesarios para que pueda mantener la cabeza por encima del agua. El escape se define como aquellos movimientos rápidos y bruscos tanto de las patas traseras como delanteras del animal con el fin de intentar escapar de la situación, a esto se anexa también

episodios en los cuales el roedor se sumerge y luego se impulsa con fuerza a la superficie del agua, como también aquellos espacios de tiempo en los cuales el animal sacude su cabeza golpeando la superficie del agua (Headshakes) (Paré, 1993).

De acuerdo con algunos autores (Nomura, Shimizu, Kinjo, Kametani & Nakazawa, 1982; Vaugois, Zuccaro & Costentin, 1997), aunque el modelo del nado forzado ha sido reconocido como una herramienta confiable, carece de objetividad en su evaluación de inmovilidad (Borsini & Meli, 1988), lo que podría justificar algunas inconsistencias entre los resultados encontrados en la literatura, así como su ineficacia en el “screen” de drogas “falsos positivos” (Nomura et al, 1982). Por lo anterior y considerando que la definición de comportamientos por estructura, o sea, la descripción en términos de posturas y movimientos subjetivos (Martin & Baterson, 1987) es poco objetiva, en el presente estudio fueron registradas la frecuencia y duración de cuatro comportamientos definidos operacionalmente de la siguiente manera:

- 0) Ausencia de movimiento de patas delanteras y traseras
- 1) Movimientos de por lo menos una pata delantera y ningún movimiento de pata trasera.
- 2) Movimientos de por lo menos una pata trasera y ningún movimiento de patas delanteras.
- 3) Movimientos de por lo menos una pata delantera y una trasera

Adicionalmente, en conformidad con lo anteriormente mencionado, todos los registros comportamentales fueron realizados por dos experimentadores para garantizar la concordancia y reproducibilidad de los mismos. La frecuencia definida como el número de veces en que el animal presenta cualquiera de los comportamientos anteriormente descritos durante todo el experimento; duración total, definida por el tiempo acumulado de cada uno de los comportamientos al final del experimento. Además de las variables comportamentales, como indicador fisiológico del estrés inducido por la situación experimental, también fue registrado el número de bolos fecales arrojados por el animal mientras este permaneció inmerso en el tanque.

Prueba de Consumo de Sacarosa: El objetivo de esta prueba es evaluar en el roedor la respuesta a la recompensa medida por la preferencia en el consumo de diferentes

concentraciones de solución de sacarosa o agua pura. Para efectos del presente estudio, los sujetos fueron expuestos a la solución de sacarosa al 32% y agua pura durante 60 minutos en una sala experimental sin previa privación de comida. Dicha concentración fue utilizada con base en los estudios anteriores realizados en el laboratorio, los cuales mostraron que animales sometidos al aislamiento social crónico prefieren consumir la solución al 32% y no las soluciones de menores concentraciones (0.7 y 4 %) (Botelho et al. 2008; Cortez et al. 2005). El consumo fue medido considerando el volumen del bebedero (ml. de solución), antes y después de la hora de evaluación del consumo. Terminada la hora experimental cada animal fue trasladado a su alojamiento inicial. Adicionalmente, fue evaluada la cantidad en gramos de sacarosa consumida por volumen de la solución.

Procedimiento

El protocolo experimental fue desarrollado en dos esquemas diferentes de forma simultánea. El primero consistió en someter los animales inicialmente al modelo del Nado Forzado (NF) y luego a la Prueba de Consumo de Sacarosa (CS); el segundo, consistió en someter los animales a la prueba de consumo y después al modelo de Nado Forzado. Dichos esquemas fueron implementados con el propósito de probar la hipótesis de que la exposición al consumo de sacarosa después del nado forzado pudiera tener efectos compensatorios sobre el metabolismo de las ratas, disminuyendo las manifestaciones de desesperanza aprendida.

Protocolo de la secuencia de la prueba: NF + CS

1. Inicio del Aislamiento.
2. Exposición a la prueba del Nado Forzado.
3. Exposición a la prueba de Consumo de Sacarosa.

Fase 1. *Inicio del Aislamiento*

Luego de tres días de habituación todos los animales fueron pesados. Posteriormente, una parte de ellos fue alojada individualmente en cajas de acrílico (1 por caja; n = 35), mientras que la otra fue alojada en cajas de acero inoxidable (6 ratas por caja; n = 36) durante 21 días.

Fase 2. *Exposición a la prueba de Nado Forzado.*

Finalizado el período de aislamiento los animales alojados en ambas condiciones (individualmente y en grupo) fueron expuestos a la prueba de Nado Forzado. Cada animal fue expuesto individualmente en el cilindro lleno de agua durante quince minutos (NF1) y, 24 horas después, cada uno de ellos fue re-expuesto en las mismas condiciones anteriores durante 5 minutos, registrándose los comportamientos antes mencionados (ver Prueba de Nado Forzado). Luego de exponer a los animales al Nado Forzado, siguió un día de receso de actividades en el cual los animales no tuvieron ningún tipo de manipulación experimental.

Fase 3. *Consumo de Sacarosa.*

Al siguiente día de receso los animales tuvieron acceso a un bebedero con solución de sacarosa al 0.7% durante 13 horas (19:00 a 8:00) como proceso de habituación y así prevenir una posible neofobia (Hall, et al, 1997). Cabe resaltar que los bebederos que se utilizaron en dicho periodo fueron los mismos donde los animales consumieron el agua pura a diario. Luego de ello, los animales fueron sometidos a la prueba de consumo de sacarosa al 32% durante 4 días consecutivos por una hora (CS1, CS2, CS3, CS4). La medida del consumo se llevó a cabo en las mismas cajas de alojamiento individual donde cada animal tuvo acceso a un bebedero con agua pura y otro con sacarosa (los bebederos siempre estuvieron ubicados al mismo lado de la caja). Para medir el consumo de sacarosa se pesó cada bebedero al iniciar y al terminar la hora estipulada de experimentación. El desarrollo de la prueba de sacarosa se realizó simultáneamente con 12 animales (6 alojados en grupo y 6 individuales) para evitar sesgos de experimentación, garantizando las medidas simultáneas para ambos grupos experimentales.

La exposición al consumo de sacarosa dispuso de diferentes horarios para así evitar que todos los días se midiera el consumo de cada grupo de ratas a la misma hora. Al finalizar los 60 minutos de consumo de sacarosa cada animal regresó a su alojamiento inicial donde tuvo libre acceso a comida y agua pura. Terminados los cuatro días correspondientes al consumo de sacarosa, se dispuso de un día de receso en el cual los animales no fueron manipulados. Luego de esto, los animales se sacrificaron, se les extrajo las glándulas adrenales (izquierda y derecha) de cada una de las ratas e inmediatamente, fueron pesadas. El peso de las mismas se utilizó como medida fisiológica de estrés producido por las manipulaciones y evaluaciones experimentales.

Protocolo de la secuencia de la prueba: CS + NF

1. Inicio del Aislamiento.
2. Exposición a la prueba de Consumo de Sacarosa.
3. Exposición a la prueba del Nado Forzado.

Fase 1. *Inicio del Aislamiento*

Luego de tres días de habituación todos los animales fueron pesados. Posteriormente, una parte de ellos fue alojada individualmente en cajas de acrílico (1 por caja; n = 35), mientras que la otra fue alojada en cajas de acero inoxidable (6 ratas por caja; n = 36) durante 21 días.

Fase 2. *Consumo de Sacarosa.*

Finalizado el período de aislamiento, los animales alojados en ambas condiciones (individualmente y en grupo) tuvieron acceso a un bebedero con solución de sacarosa al 0.7% durante 13 horas (19:00 a 8:00) como proceso de habituación y así prevenir una posible neofobia (Hall et al. 1997). Cabe resaltar que los bebederos que se utilizaron en dicho período fueron los mismos donde los animales consumieron el agua pura a diario. Luego de ello, los animales fueron sometidos a la prueba de consumo de sacarosa al 32% durante 4 días consecutivos por una hora (CS1, CS2, CS3, CS4). La medida del consumo se llevó a cabo en los mismas cajas de alojamiento individual donde cada animal tuvo acceso a un bebedero con agua pura y otro con sacarosa (los bebederos siempre estarán ubicados al mismo lado de la caja). Para medir el consumo de sacarosa se pesó cada bebedero al iniciar y al terminar la hora estipulada de experimentación. El desarrollo de la prueba de sacarosa se realizó simultáneamente con 12 animales (6 alojados en grupo y 6 individuales) para evitar sesgos de experimentación, garantizando las medidas simultáneas para ambos grupos experimentales.

La exposición de consumo de sacarosa dispuso de diferentes horarios para así evitar que todos los días se midiera el consumo de cada grupo de ratas a la misma hora. Al finalizar los 60 minutos de consumo de sacarosa cada animal regresó a su alojamiento inicial donde tuvo libre acceso a comida y agua pura. Terminados los cuatro días correspondientes al consumo de sacarosa, se tuvo un día de receso en el cual los animales no fueron manipulados.

Fase 3. *Exposición a la prueba de Nado Forzado.*

Terminado el día de receso, los animales alojados en ambas condiciones (individualmente y en grupo) fueron expuestos a la prueba de Nado Forzado. Cada animal fue expuesto individualmente en el cilindro lleno de agua durante quince minutos (NF1) y, 24 horas después, cada uno de ellos fue re-expuesto en las mismas condiciones anteriores durante 5 minutos, registrándose los comportamientos antes mencionados (ver Prueba de Nado Forzado). Luego de esto, se sacrificaron los animales, se les extrajeron las glándulas adrenales (izquierda y derecha) de cada una de las ratas las cuales, inmediatamente después, fueron pesadas. El peso de las mismas se utilizó como medida fisiológica de estrés producido por las manipulaciones y evaluaciones experimentales.

Análisis de Datos

A partir de los videos de los experimentos y del software PROSTCOM (Conde, Costa & Tomaz, 2000), dos evaluadores, de manera independiente, realizaron registros comportamentales de las variables descritas (*Ver Metodología, Nado forzado*) donde se tuvo en cuenta el Tiempo Absoluto, Tiempo Relativo, Frecuencia Absoluta y Frecuencia Relativa de cada uno de los comportamientos observados. Se evaluó la reproducibilidad entre evaluadores para cada variable comportamental, basados en el método de Bland y Altman (1986) y los intervalos de confianza para las diferencias. Los cálculos se realizaron incluyendo todos los animales del experimento y luego se analizó la reproducibilidad de los resultados para cada grupo de ratas por separado.

Por otra parte, para evaluar la diferencia en el consumo de sacarosa en el día 2 de la prueba de consumo, el consumo total de sacarosa durante los 4 días de la prueba de consumo, la frecuencia relativa de los comportamientos 1 (movimientos de por lo menos una pata delantera de la rata) y 3 (movimientos de por lo menos una pata delantera y una trasera de la rata) en la Prueba de Nado Forzado y el peso de la glándula adrenal posterior a la exposición a la prueba de nado forzado o de consumo de sacarosa (dependiendo de la secuencia programada para grupo experimental) entre los diferentes grupos, se utilizó una ANOVA de dos factores, donde el factor 1 se refiere al tipo de alojamiento al cual fue sometido el grupo de animales (aislados o agrupados) y el factor 2, se refiere a la secuencia en que los animales fueron expuestos a las diferentes pruebas (nado forzado + consumo de

sacarosa; consumo de sacarosa + nado forzado) seguida, cuando era necesario, de la prueba *t* de Bonferroni para comparaciones múltiples con una $p < 0,05$.

Por otra parte, para correlacionar las variables alojamiento, secuencia de la prueba, los diferentes días de consumo (CS1, CS2, CS3, CS4), consumo total (promedio), las frecuencias relativas de los comportamientos 1 y 3 en la prueba de Nado Forzado y el peso de la glándula adrenal, se utilizó un análisis de correlación de Spearman. Para todos los casos se consideró una $p < 0,05$.

Finalmente, se realizaron análisis de Regresión Múltiple con las variables: tipo de alojamiento, secuencia de exposición a las pruebas, frecuencia relativa de los comportamientos 1 y 3 y peso de la glándula adrenal posterior a la exposición a la prueba de nado forzado o de consumo de sacarosa (dependiendo de la secuencia programada para grupo experimental). De igual forma se consideró una $p < 0,05$.

Resultados

Reproducibilidad entre evaluadores para cada variable comportamental.

Límites de acuerdo de Bland y Altman (1986), para cada comportamiento dentro de la prueba de nado forzado se calculó el promedio de la diferencia y ± 1.96 errores estándar de la diferencia (intervalos de confianza del 95%). Si la reproducibilidad entre evaluadores es buena, la diferencia entre evaluadores sería cero y los valores de los intervalos de confianza tendrían un extremo por encima de cero y otro por debajo de cero. En los casos en que ambos intervalos de confianza estuvieran por encima de cero o ambos por debajo del cero, se descarta la hipótesis de que no hay diferencias entre los evaluadores. Con base en esto, se encontró que las variables en las que hubo reproducibilidad entre evaluadores fueron las frecuencias relativas de los comportamientos 1 y 3 (anteriormente descritos). No obstante, no se encontró reproducibilidad inter evaluadores sobre el comportamiento 0 (ausencia de movimiento de patas delanteras y traseras) el cual fue utilizado como indicador de inmovilidad en el presente estudio.

Prueba Nado Forzado

Con respecto al comportamiento 1 en la prueba de Nado Forzado, el análisis no arrojó diferencias significativas atribuibles ni al factor Alojamiento ($F_{[1,70]} = 0,184$; $p > 0,05$) ni al

factor Secuencia de exposición a las pruebas ($F_{[1,70]} = 0,184$; $p > 0,05$). Se destaca por lo tanto, que dichos factores no tienen efecto relevante sobre la frecuencia relativa del comportamiento 1 en la prueba de nado forzado. De la misma forma, el ANOVA de dos factores no reveló diferencias significativas atribuibles al factor Alojamiento ($F_{[1,70]} = 0,0877$; $p > 0,05$), ni al factor Secuencia de la prueba ($F_{[1,70]} = 2,814$; $p > 0,05$) con respecto comportamiento 3 en la prueba de Nado Forzado, demostrando que el movimiento de por lo menos una pata delantera y una trasera, no fue afectado ya sea por el tipo de alojamiento o por la Secuencia de la prueba a que fueron expuestos los animales.

Prueba de Consumo de Sacarosa

El ANOVA de dos factores realizado para comparar el consumo de sacarosa en el segundo día de la prueba de consumo (figura 1) reveló que existen diferencias estadísticas significativas atribuibles al tipo de alojamiento ($F_{[1,70]} = 16,502$; $p < 0,05$), pero no a la secuencia de exposición a las pruebas ($p > 0,05$). Adicionalmente, no hubo interacción entre los dos factores ($p > 0,05$). El análisis *Post Hoc* (t de Bonferroni) reveló que los animales alojados individualmente consumieron más de la solución de sacarosa (32%) que los agrupados ($t = 4,062$). Estos resultados demuestran que los animales alojados individualmente durante el segundo día de la exposición a la prueba de consumo se sacarosa, ingirieron una mayor cantidad en volumen de solución de sacarosa que aquellos animales alojados en grupo.

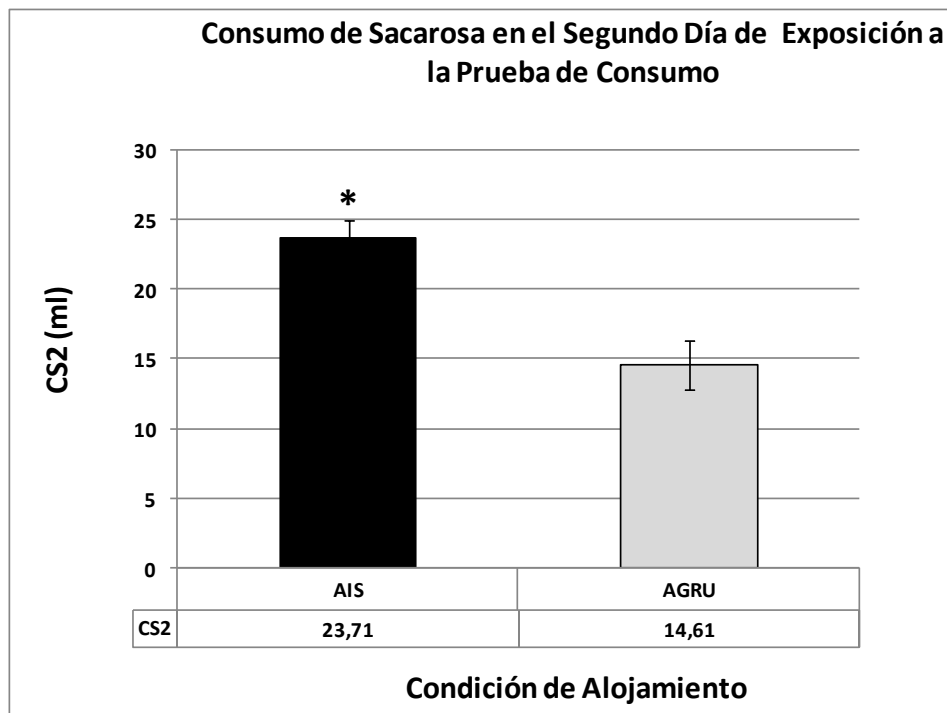


Figura 1. Consumo de Sacarosa en el segundo día de exposición a la prueba de consumo de sacarosa (CS2). AIS, grupo de animales aislados socialmente; AGRU, grupo de animales alojados en grupo. *, Consumo de sacarosa de los animales aislados socialmente, mayor que el consumo de los animales agrupados, independiente de la secuencia de prueba (Two Way ANOVA, $p < 0,05$)

Adicionalmente, el mismo análisis reveló diferencias significativas atribuibles a los factores 1 y 2 ($F_{[1,70]} = 13,644$ y $F_{[1,70]} = 6,550$, $p < 0,05$, respectivamente) con relación al consumo total de solución de sacarosa 32% (Figura 2). Sin embargo, no se evidenció ninguna interacción entre los mismos ($p > 0,05$). El análisis para comparaciones múltiples (t de Bonferroni) demostró que, en general, los animales aislados consumieron más de la solución de sacarosa al 32% que los animales alojados en grupo ($t = 3,694$). Así mismo, el consumo total de sacarosa fue mayor en los animales aislados que pasaron primero a la prueba de Nado Forzado y después por el Consumo ($t = 2,559$) en comparación a los animales aislados que fueron expuestos a la secuencia Consumo + Nado forzado. De lo anterior, se puede sugerir que, los animales alojados individualmente que pasaron primero por la prueba de Nado Forzado y después al Consumo, exhibieron un consumo total de solución de sacarosa al 32% mayor que los que pasaron primero por la prueba de consumo.

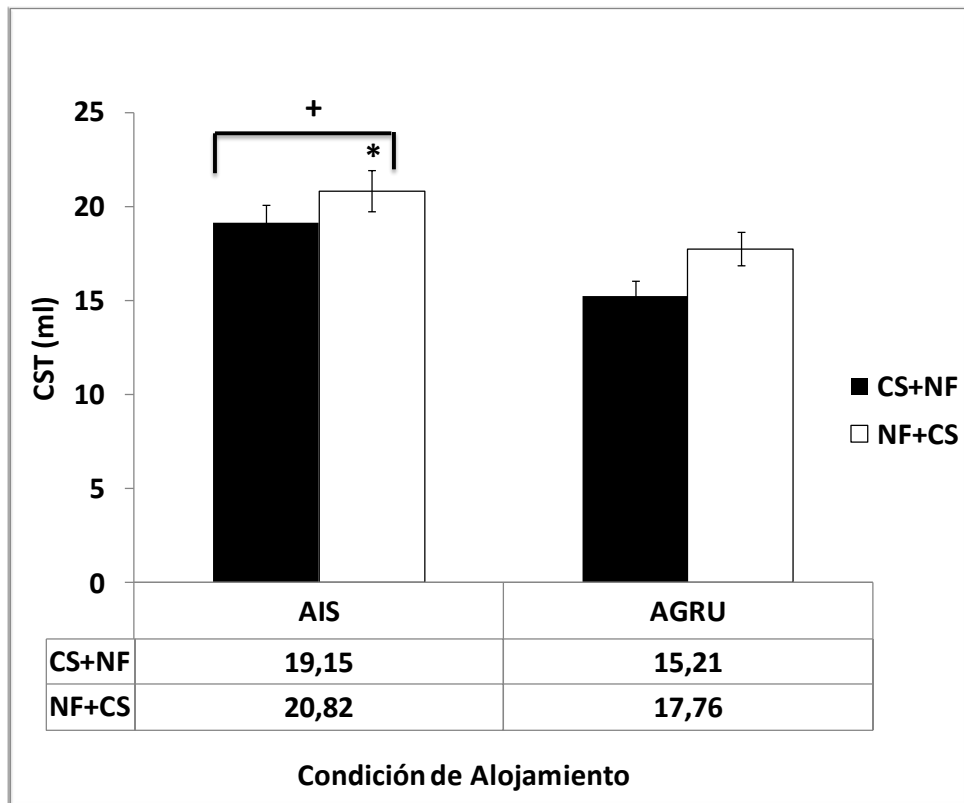


Figura 2. Efecto de la condición de alojamiento y de la secuencia de pruebas sobre el consumo total (CST) de sacarosa (promedio de los cuatro días) de ratas aisladas socialmente (AIS) o agrupadas (AGRU), sometidas a la prueba de consumo de sacarosa seguida de la prueba de nado forzado (secuencia CS+NF) y sometidas a la prueba de nado forzado seguida por la prueba de consumo de sacarosa (NF+CS). ⁺, Consumo de los animales aislados socialmente mayor que el consumo de los animales alojados en grupo. ^{*}, Consumo de los animales aislados socialmente y que fueron sometidos a la secuencia NF+CS, mayor que de los animales aislados socialmente y sometidos a la secuencia de prueba CS+NF. (Two Way ANOVA, $p < 0,05$)

Adrenales

El análisis utilizado para evaluar el peso de la glándula adrenal (Figura 3) de las ratas de los diferentes grupos, demostró que no hubo diferencia significativa atribuible al factor 1 (alojamiento) ($F_{[1,68]} = 0,194$; $p > 0,05$) ni se halló interacción entre los factores ($P > 0,05$). Sin embargo, se encontró diferencias atribuibles al factor 2 (secuencia de pruebas) ($F_{[1,68]} = 4,531$; $p < 0,05$). De acuerdo con esto, el análisis de Bonferroni reveló que los animales que pasaron primero la prueba de Consumo y después por el Nado Forzado presentaron mayor peso de la glándula adrenal ($t = 2,129$), en comparación con los animales que fueron expuestos a la secuencia de Nado forzado + Consumo. Por lo anterior, si bien el alojamiento no afectó significativamente el peso de la glándula adrenal, la exposición de las ratas por último a la prueba del Nado Forzado, aumentó significativamente el peso de la glándula adrenal, sugiriendo efecto de estresor agudo que tuvo esta prueba de nado forzado.

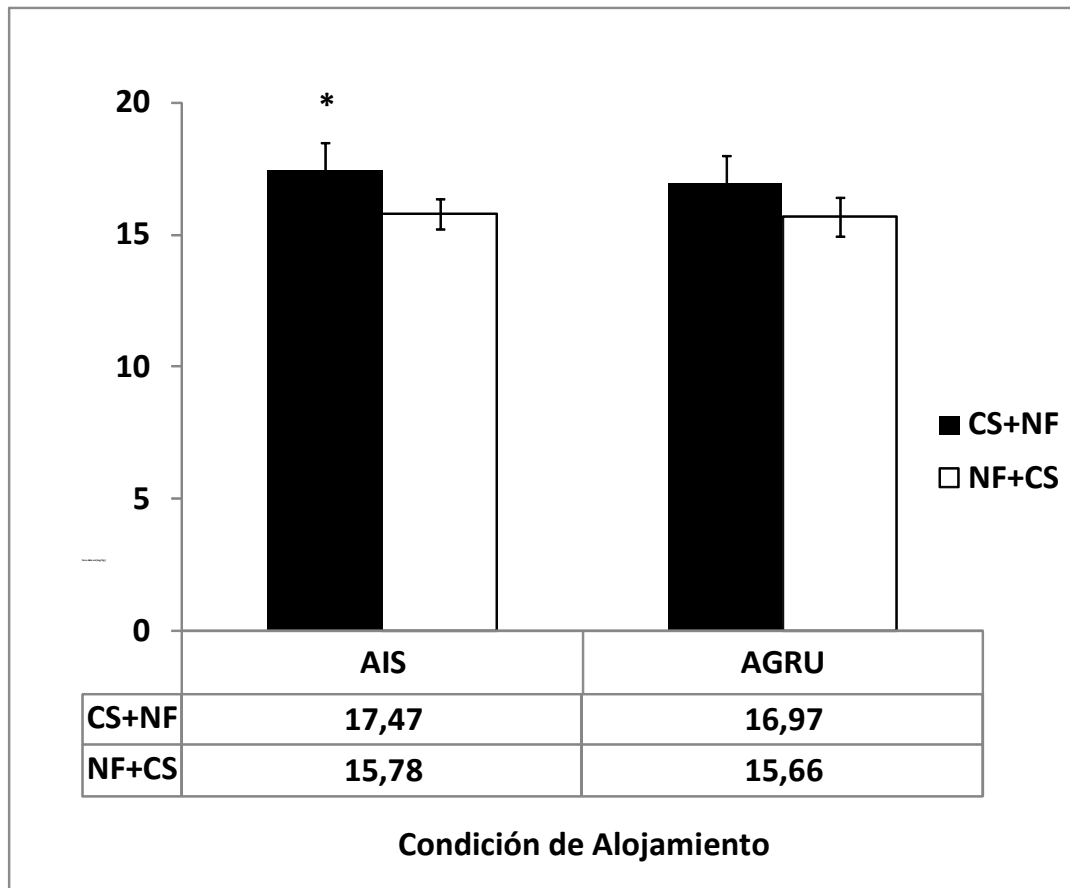


Figura 3. Efecto de la condición de alojamiento y de la secuencia de pruebas sobre el peso de las glándulas adrenales de ratas aisladas socialmente (AIS) o agrupadas (AGRU), sometidas a la prueba de consumo de sacarosa seguida de la prueba de nado forzado (secuencia CS+NF) y sometidas a la prueba de nado forzado seguida por la prueba de consumo de sacarosa (NF+CS). *, Peso de la adrenal de los animales aislados socialmente y sometidos a la secuencia CS+NF, mayor que de los animales aislados socialmente y sometidos a la secuencia de prueba NF+CS. (Two Way ANOVA, $p < 0,05$)

Análisis de Correlación

Según el análisis de correlación de Spearman, se encontró una correlación negativa entre el tipo de alojamiento y el consumo de sacarosa en el día 2 ($r = -0,426$) y entre tipo de alojamiento y el consumo total de sacarosa en las 4 exposiciones a la prueba ($r = -0,355$). De acuerdo con los resultados, mientras los animales alojados individualmente consumieron más de la solución de sacarosa 32%, los alojados en grupo consumieron

menos, tanto en el consumo en el día 2 como el consumo promedio de las 4 exposiciones a la prueba. Se destaca, por lo tanto, que el alojamiento individual crónico influye sobre el consumo de soluciones de sacarosa altamente concentradas (32%). Adicionalmente, el consumo en el día 2 se correlacionó positivamente con consumo total de sacarosa ($r = 0,747$) y el peso de la glándula adrenal ($r = 0,311$), sugiriendo que en la medida que aumenta el consumo de sacarosa también se incrementa el peso de la glándula adrenal. Sin embargo, no hubo correlación estadísticamente significativa entre el tipo de alojamiento y los comportamientos 1 y 3 en la prueba de Nado Forzado ($p=0,954$ y $p=0,873$ respectivamente). Por ende, el tipo de alojamiento no incide en el desempeño del animal en la prueba de Nado forzado.

Con relación a las variables comportamentales y el peso de la glándula adrenal se pudo demostrar una correlación negativa entre los comportamientos 1 y 3, ($r = -0,729$; $p = 0$) y una correlación positiva entre comportamiento 1 y peso de la adrenal ($r = 0,394$). Adicionalmente, el análisis reveló que el comportamiento 3 se correlacionó negativamente con el peso de la glándula adrenal ($r = -0,378$). Finalmente, se pretendió correlacionar el desempeño de las ratas en la prueba de Nado Forzado y la secuencia a que fueron expuestas a las pruebas de Consumo y Nado Forzado. Los análisis no encontraron ninguna correlación estadísticamente significativa ($p=0,148$ y $p=0,113$) que demostrara efecto de la secuencia sobre los comportamientos 1 y 3 en la prueba de Nado forzado. Sin embargo, la secuencia a que fueron expuestos los animales influyó sobre el consumo total de sacarosa, encontrando que los animales que fueron expuestos primero por el Nado Forzado consumieron más sacarosa (32%) que los que pasaron primero a la prueba de consumo.

Tabla 1. Análisis de Correlación entre las variables comportamentales evaluadas (Spearman, $p < 0,05$).

	SECUENCIA PRUEBA	CONSUMO-PROMEDIO	COMPORTAMIENTO 1	COMPORTAMIENTO 3	ADRENAL
ALOJAMIENTO	$r = 0,0143$ $p = 0,906$	$r = -0,355$ $p = 0,00245$	$r = -0,00687$ $p = 0,954$	$r = 0,0192$ $p = 0,873$	$r = -0,0619$ $p = 0,613$
SECUENCIA PRUEBA		$r = -0,294$ $p = 0,0132$	$r = 0,173$ $p = 0,148$	$r = -0,19$ $p = 0,113$	$r = 0,212$ $p = 0,0806$
COMPORTAMIENTO 1				$r = -0,729$ $p = 0$	$r = 0,394$ $p = 0$
COMPORTAMIENTO 3					$r = -0,378$ $p = 0,00143$

Regresiones Múltiples

Con el objetivo de contribuir a la comprensión del cuadro fisiológico-comportamental derivado de la condición experimental del presente trabajo, se procedió a realizar diferentes modelos de regresiones lineales múltiples incluyendo las diferentes variables

que fueron registradas. Los resultados que interesa destacar se relacionan con la explicación de dos variables comportamentales, el consumo de sacarosa al segundo día (CS2) y la Frecuencia Relativa del comportamiento 3 (FR3).

El modelo que mejor explicó el consumo de sacarosa el segundo día (CS2), indicó que esta variable podría ser explicada significativamente cuando se incluyeron 3 variables explicatorias: El peso de la suprarrenal, la secuencia de prueba y la condición de alojamiento, de manera que, la cantidad de sacarosa consumida incrementó si el animal tuvo mayor peso de la adrenal, pero disminuyó si la secuencia fue de CS-NF y disminuyó si hubo alojamiento en grupo. La ecuación resultante de este modelo fue:

$$CS2 = 5.795 + (1.224*PA) - (4.947*SP) - (8.687*CA)$$

	P
PA	0,002
SP	0,028
CA	<0.001

Donde:

PA: Peso de adrenal (en mg)

SP: Secuencia de prueba. En este caso se llamó 1 a la secuencia CS-NF y se llamó 0 (cero) a la secuencia NF-CS

CA: Condición de alojamiento. En este modelo se llamó 1 a la condición de alojado en grupo y 0 (cero) al alojamiento individual.

Es importante notar que los coeficientes betha asociados a SP y CA son negativos (-4.947 y -8.687 respectivamente). Esto indica que cuando el valor de SP era 1 (uno), que corresponde a la secuencia CS-NF, tal condición podría inducir una disminución del consumo de sacarosa en 4.947 (ml), pero cuando la secuencia fue cero, correspondiendo a una secuencia de NF-CS, este coeficiente quedaría multiplicado por cero y, por tanto, la contribución de la secuencia experimental no pesaría sobre el consumo de sacarosa. De manera semejante, cuando el animal estuvo alojado en grupo (condición llamada de 1), el consumo de sacarosa se disminuiría en 8.687 (ml) pero cuando la condición era de

alojamiento individual (condición cero), el coeficiente quedaría multiplicado por cero, por lo tanto, tal secuencia no contribuiría al consumo de sacarosa.

De lo anterior se deduce que la condición de alojamiento en grupo y la secuencia CS-NF, disminuyen el consumo de sacarosa comparado con un animal con igual peso de adrenal pero alojado individualmente y con una secuencia experimental NF-CS. Lo cual es coherente con lo esperado en cuanto un animal alojado individualmente y con una secuencia experimental NF-CS, induciría mayor consumo de sacarosa sugiriendo un estado de mayor demanda metabólica (estrés) y posiblemente un incremento del umbral del placer (requiere mayor consumo de sacarosa).

Otro ejemplo derivado de la ecuación puede ser: El consumo de sacarosa CS2 de un animal alojado en grupo y cuya secuencia experimental fuera NF-CS, podría explicarse solamente por el peso de la adrenal, su coeficiente betha (+1.224) y el término independiente 5.795, es decir, la ecuación sería:

$$CS2 = 5.795 + 1.224*PA$$

La otra explicación que interesa destacar aquí, es la del comportamiento FR3. El mejor modelo exploratorio de este comportamiento se puede representar por la ecuación:

$$FR3 = 44.661 - (1.47*PA) + (0.25*CS2)$$

	P
PA	<0.001
CS2	0,026

Donde:

FR3: Frecuencia relativa (%) del comportamiento 3 (movimiento con las 4 patas).

PA : Peso de la adrenal (en mg).

CS2 : Consumo de sacarosa el segundo día (ml).

Esto es, la movilidad de las 4 patas en el nado forzado, sería menor en animales cuyo peso de la adrenal fue mayor ($\beta = -1.47$) e incrementaría en un valor equivalente a lo consumido de sacarosa multiplicado por el coeficiente de 0.25.

En otras palabras, si se comparan dos animales que consumieron igual cantidad de sacarosa el segundo día, aquellos que tuvieran un mayor peso de la adrenal, presentarían 1.47 veces menos movilidad de las 4 patas en el nado forzado. Esto sería coherente con una condición en la cual, el animal hubiera estado bajo un estrés intenso (adrenal pesada).

Discusión

El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos comportamentales de tipo “desesperanza aprendida y anhedonia” en ratas sometidas al aislamiento social crónico. De manera general, se encontró que los animales alojados individualmente consumieron en mayor proporción la solución de sacarosa (32%) que los animales alojados socialmente, donde los animales que más consumieron fueron los que presentaron pesos adrenales más elevados; este aumento varió dependiendo de la secuencia de exposición a los diferentes estresores (condición de alojamiento y exposición al nado forzado). Sin embargo, considerando que no se encontró reproducibilidad inter evaluadores con respecto al comportamiento 0 (ausencia de movimiento de patas delanteras y traseras), el cual sería utilizado como indicador de inmovilidad en el presente estudio, no se pudo concluir nada con respecto a la desesperanza aprendida.

Los resultados obtenidos con el protocolo experimental utilizado en el presente trabajo coinciden con diversos estudios de la literatura que demuestran que la exposición a estresores crónicos moderados (ECM) produce una serie de alteraciones comportamentales (Fone, Shalders, Fox, Arthur & Marsden, 1996; Heidbreder et al, 2000; Lapid, Mateo, Parker & Marsden, 2000; Muscat et al. 1992; Weiss et al, 2004). Particularmente, concuerdan con diferentes estudios que han demostrado la influencia del aislamiento social sobre el comportamiento de roedores, produciendo cambios en sus sistemas emocionales (Xiaohong et al. 2009) como alertamiento emocional y comportamiento agresivo (Becerra, 2003; Hilakiviy, Ota & Lister, 1989), incremento en la interacción social (Arakawa, 2005; Lister & Hilakiviy, 1988), ansiedad en el laberinto en cruz elevado (Botelho, Estanislau &

Morato, 2007) y déficits en tareas de aprendizaje y memoria espacial (Molina et al. 2001; Sahakian, 1977) entre otros.

Específicamente, concuerdan con varios estudios que han demostrado que la exposición al aislamiento genera también cambios comportamentales relacionados con la preferencia por el consumo de soluciones de sacarosa (Grippe et al. 2003; Hall et al. 1997; Hout, Thirvikraman, Meaney & Plotsky, 2001; Rygula et al. 2005; Sammut et al., 2002; Willner, 1997). En este sentido, algunos autores han encontrado que animales aislados, son más sensibles al consumo de altas concentraciones de sacarosa (32% y 34%), o sea, los animales alojados individualmente consumen más de las soluciones altamente concentradas que los animales alojados en grupo (Cortez et al. 2005; Hall et al. 1997; Martínez et al. 2008; Sammut et al. 2002). Hall et al. (1997) evaluaron diferentes concentraciones de sacarosa (0.7, 2.1, 21 y 34%) encontrando que las ratas aisladas consumieron mayor cantidad de soluciones de sacarosa altamente concentradas que las ratas agrupadas dependiendo del orden en que fueron presentadas las concentraciones de la solución de sacarosa; la exposición a concentraciones en orden ascendente (contraste positivo) produjo mayor consumo que aquellas presentadas en orden descendente (contraste negativo). Adicionalmente, demostraron que el consumo de sacarosa tiene relación con procesos motivacionales, en particular, con el sistema dopaminérgico, el cual media los efectos provocados por la ingesta de sacarosa.

En la misma línea, otros autores como Brennan et al. (2001), dividieron su grupo experimental entre aquellas ratas que consumieron más sacarosa (altos consumidores) y los que consumieron pocas cantidades de sacarosa (bajos consumidores), con el fin de examinar las diferencias motivacionales subyacentes al consumo de ésta, así como el potencial efecto del sistema dopaminérgico que contribuye con dichas diferencias. Los animales fueron deprivados de agua durante 11 horas y sometidos al esquema de refuerzo progresivo, es decir, que el costo de recompensa fue incrementado progresivamente durante los 6 días de prueba, bajo tres porcentajes de soluciones de sacarosa al 10, 20 y 30%. Allí se encontraron diferencias evidentes con respecto al volumen consumido de las soluciones más concentradas, donde el grupo experimental catalogado como altos consumidores, ingirió significativamente más de la solución de sacarosa más concentrada que aquellas ratas que formaban parte del grupo de bajos consumidores. Según los autores, estos resultados dejan claro que en la medida que el refuerzo se intensifica, los animales tienden a aumentar su consumo, sugiriendo que el esquema de refuerzo progresivo es un

modelo útil para medir el incentivo y el valor hedónico que tiene la sacarosa para los animales, en el cual se ve directamente implicado el sistema dopaminérgico.

En estudios anteriores realizados en nuestro laboratorio (Botelho, et al. 2008; Cortez et al. 2005) las ratas fueron sometidas al aislamiento social o mantenidas en grupo (control) durante 21 días y evaluadas con respecto a la preferencia por el consumo de diferentes concentraciones de sacarosa. En ambos trabajos se pudo demostrar el aislamiento social crónico produjo una mayor preferencia por el consumo las soluciones más concentradas (32%). Según dichos autores, la preferencia por el consumo de soluciones más concentradas de sacarosa se asocia con una baja sensibilidad a la recompensa o un incremento en el umbral del placer, lo que es usado en la literatura como un indicador de anhedonia en roedores (Sammut et al. 2002; Willner, 2005).

Considerando que el valor de recompensa asociado al consumo de sacarosa, que es utilizado como reforzador primario, está influenciado por el aprendizaje, la importancia del incentivo y el impacto hedónico (Dantzer et al. 1999) y que el consumo de sacarosa en el presente estudio estuvo correlacionado positivamente con el peso de las glándulas adrenales, se podría inferir a partir de nuestros resultados que el aislamiento social produjo además de la preferencia por el consumo de soluciones más concentradas, una activación del eje HHA, lo que favorece la hipótesis de que el aislamiento social crónico produjo un perfil anhedónico en los animales. O sea, aquellos que más consumen son en los que más se evidencian activación del eje HHA. De acuerdo con ello, el paradigma de estrés crónico como el aislamiento social podría ser un buen modelo animal para inducir la disminución de la respuesta a las recompensas (anhedonia) que es un síntoma característico de la depresión (APA, 2002; Hall et al. 1997; Strekalova et al. 2004).

No obstante, la mayoría de los estudios en esta línea han demostrado que la anhedonia está asociada con la disminución del consumo de bajas concentraciones de sacarosa (0.1% y 2%) (Grippe et al. 2005; Katz 1981; Kompagne et al. 2008; Muscat et al. 1992; Muscat Sampson, & Willner. 1990; Papp et al. 1991; Papp et al. 1993; Willner et al. 1987; Willner, 1991). De acuerdo con ello, autores como Papp et al. (1991) manifiestan que la exposición a estrés impredecible ha sido empleada para disminuir la preferencia por el consumo de soluciones dulces en animales. Por su parte, después de implementar el condicionamiento con soluciones de sacarosa (0,7% y 34%), dichos autores encontraron que los animales aislados consumían menos de la solución baja, no encontrando diferencias significativas

entre animales agrupados y aislados con respecto al consumo de soluciones altamente concentradas. Según Willner (1991), esta disminución del consumo podría reflejar una disfunción del sistema mesolímbico dopaminérgico.

Otro trabajo realizado por Willner et al. (1987), en los que las ratas fueron sometidas a una variedad de estresores crónicos e impredecibles, incluyendo descargas eléctricas, inmersión en agua fría, suspensión de la cola, entre otros, se encontró que la reducción del consumo de sacarosa (1%) se mantuvo durante un período de dos a cuatro semanas después de ser retiradas de la secuencia de estrés. Resultados similares, como los de Grippo et al, (2005), hallaron que el grupo de ratas expuesto a estrés crónico moderado consumió significativamente menos sacarosa al 1% que las ratas del grupo control, fortaleciendo la hipótesis de que la disminución del consumo de bajas concentraciones de sacarosa está asociada con la exposición prolongada a estrés.

Adicionalmente, en un estudio donde las ratas fueron sometidas previamente a estrés crónico impredecible y evaluadas cuanto al consumo reducido de soluciones dulces 1%, encontraron que este efecto fue revertido por tratamiento crónico (nueve semanas) con antidepresivos atípicos, Fluoxetina y Maprotilina (5 mg/Kg/día). Los resultados sugieren que la exposición secuencial crónica a una variedad de estresores causa una reducción en el consumo de soluciones de sacarosa al 1% en consonancia con una disminución en las propiedades recompensantes. Coherentemente, cuando el síntoma anhedónico es tratado con fármacos antidepresivos como la Fluoxetina y Maprotilina de forma crónica, se aumentan los niveles de dopamina (DA) en el cerebro, posiblemente en el núcleo accumbens, lo que conllevaría a revertir el efecto anhedónico producido por el estrés crónico en animales (Muscat et al. 1992). En 1993, Papp y colaboradores, corroboraron hallazgos sobre la proyección mesolímbica dopaminérgica implicada mayormente en respuestas recompensantes, demostrando que ratas sometidas a estrés crónico moderado por un total de nueve semanas, redujeron el consumo de solución de sacarosa al 1%. Luego de cuatro inyecciones de Quinpirole (1ml/Kg), un supuesto agonista de receptores dopaminérgico D2, se produjo un importante aumento en la ingesta de sacarosa, consiguiendo revertir este patrón de consumo en los animales estresados. Estos resultados sugieren que la función dopaminérgica, en particular del núcleo accumbens (Hall et al, 1997; Papp et al. 1993), modula el efecto de incentivo motivacional de la sacarosa.

De manera general, el presente trabajo sustenta la premisa de que el comportamiento anhedónico está asociado con el aumento del consumo de altas concentraciones de sacarosa, lo que es acompañado de activación del eje HHA, ya que en estas condiciones los animales presentaron concomitante incremento del peso de las glándulas adrenales. Los resultados encontrados en la literatura demostrando que la anhedonia está asociada también con la disminución del consumo de soluciones de sacarosa de bajas concentraciones, sólo refuerzan la hipótesis planteada por Cortez et al. (2005) y Botelho et al. (2008) de que el poco valor recompensante de estas soluciones o el incremento en el umbral del placer, favorecen a que el animal no las consuma en grandes cantidades. Posiblemente, dichas concentraciones no serían lo suficientemente recompensantes para activar el sistema dopaminérgico en los animales estresados crónicamente, ya que este sistema es el que se encuentra implicado con el aprendizaje a la recompensa (Hall et al, 1997; Roso, Alonso & Brugue, 2008).

Por otra parte, los resultados obtenidos en el presente estudio revelaron que la secuencia de exposición a los diferentes estresores alteró el promedio del consumo de sacarosa durante los cuatro días de prueba. O sea, los animales aislados que fueron expuestos primero a la prueba de nado forzado y luego a la prueba de consumo de sacarosa (NF+CS), consumieron en mayor proporción la solución de sacarosa (32%) que los animales aislados que primero pasaron por la prueba de consumo de sacarosa y después a la prueba de nado forzado (CS+NF). El incremento en el consumo se evidenció, particularmente, cuando los animales fueron sometidos a la prueba de nado forzado antes de ser evaluados en la prueba de consumo de sacarosa, con concomitante aumento del peso de las glándulas adrenales. Dichos resultados surgieron que el aislamiento social asociado a otro estresor, como la exposición a la prueba de nado forzado, produce el comportamiento de “tipo anhedónico” evaluado con la prueba de consumo de sacarosa. Sin embargo, no fue posible confirmar la segunda hipótesis planteada en el presente estudio de que el aumento en el consumo de sacarosa podría tener un efecto compensatorio sobre la respuesta de desesperanza aprendida, ya que no se halló reproducibilidad inter evaluadores en el registro del comportamiento 0 utilizado como indicador de inmovilidad.

Algunos estudios argumentan que la característica estresora del modelo de nado forzado está asociada con el hecho de que el animal no puede evitar, predecir, ni escapar del estresor (Alguacil et al. 1996). En concordancia con lo anterior, Borsini y Melí (1988), defienden la suposición de que el comportamiento de inmovilidad de los animales en el

instrumento de nado forzado, se asocia más con una consecuencia de la situación de estrés, que a un comportamiento de desesperanza propiamente dicho. Sin embargo, la mayoría de los estudios, evalúan la desesperanza aprendida utilizando la inmovilidad como un indicador de desesperanza aprendida en el modelo de nado forzado, con la cual se ha demostrado que este modelo es útil como *screening* de fármacos potencialmente antidepressivos (Kitamura et al. 2004; Sakakibara et al. 2005).

Kitamura et al. (2004), estudiaron el efecto de la imipramina, un antidepressivo tricíclico, sobre la duración del comportamiento de inmovilidad producida por la exposición aguda (una única exposición) y crónica al test de nado forzado (por 14 días). La administración crónica de Imipramina, redujo el tiempo de inmovilidad inducido tanto por la exposición aguda como por la exposición crónica al NF. Sin embargo, el tratamiento agudo con la Imipramina no disminuyó el tiempo de inmovilidad producido por la exposición crónica a este modelo. De acuerdo con estos resultados, se podría inferir que el tratamiento agudo con Imipramina no produce efecto antidepressivo en ratas sometidas a estrés crónico por la exposición repetida al modelo de nado forzado. Estos resultados coinciden con la idea de que la exposición al estrés crónico produce comportamientos de “tipo depresivo” en animales, el cual solo es revertido por la administración crónica de fármacos antidepressivos. Esta premisa es compatible con la lenta instauración del efecto terapéutico de los fármacos utilizados para tratar la depresión en la clínica (Charney & Nestler, 1999).

De forma correspondiente, Sakakibara et al. (2005) reportaron que el estrés causado por el nado en la prueba de nado forzado, provocó un estado depresivo en las ratas que no fueron tratadas con imipramina, a diferencia de aquellos animales a los cuales se les suministró durante 2 semanas el fármaco, mostrando una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad durante la prueba. Este resultado indica, nuevamente, que efectivamente la exposición crónica al test de nado forzado, podría consistir en un factor estresante capaz de inducir comportamientos de tipo depresivos que pueden ser revertidos por el tratamiento crónico con este tipo de antidepressivos.

En conjunto todos estos trabajos fortalecen la hipótesis de que la prueba de nado forzado representa un estímulo claramente aversivo para los animales; sumado a esto y de acuerdo con el protocolo experimental que se utilizó en el presente estudio, el aislamiento social durante 21 días sumado a la exposición aguda al test de nado forzado, produjo

mayor consumo de solución de sacarosa al 32% en comparación con el grupo control y el grupo experimental que primero fue expuesto a la prueba de consumo de sacarosa. A partir de ello, se podría inferir que el estrés crónico generado por el aislamiento social más el estrés agudo provocado por la prueba de nado forzado, influyeron de forma significativa en la instauración del síntoma anhedónico en ratas, viéndose reflejado en el aumento del consumo de sacarosa al 32%. De la misma forma, Strekalova et al. (2004) implementando un procedimiento de estrés que incluía dos estresores (inmovilización + suspensión de la cola), propusieron que los déficits hedónicos son inducidos en roedores por estrés crónico, ya que el consumo de la solución de sacarosa (1%) disminuye significativamente después de las cuatro semanas de exposición al estresor.

Por todo lo anterior, se podría suponer que tanto el aumento en el consumo de soluciones de sacarosa muy concentradas (32%) como la disminución en el consumo de soluciones de sacarosa poco concentradas (1%) podrían ser interpretados como un comportamiento de “tipo anhedónico”. Dicha suposición refuerza la hipótesis de Cortez et al. (2005) y Botelho et al. (2008) relacionada con la importancia del valor recompensante que cada concentración tiene para el animal. De esta manera, para el animal “anhedónico”, el valor recompensante de la solución debe ser muy elevado para incitarlo a consumir de la solución, lo que también está a favor de que la anhedonia está asociada a una baja sensibilidad a la recompensa (Willner, 2005).

En conjunto, los resultados del presente estudio soportan la idea de que el comportamiento de “tipo anhedónico” depende no solo de la exposición a estresores crónicos sino también de la intensidad del estímulo estresor. Esta idea podría ser reforzada por el hecho de que aislamiento social crónico utilizado en la presente investigación, por sí solo, no alteró el peso de las glándulas adrenales pero si cuando estas fueron pesadas inmediatamente después de la exposición a la prueba de nado forzado. Adicionalmente, estos resultados, según Sánchez (1994), podrían responder al complejo conjunto de circuitos nerviosos que regulan las diferentes respuestas al estrés, resultando difícil caracterizar el aislamiento social en relación con las alteraciones hormonales que suscita.

Sin embargo, en los animales alojados individualmente que fueron sometidos a la secuencia de prueba CS+NF presentaron un mayor peso de las glándulas adrenales que los animales aislados sometidos a la secuencia NF+CS. O sea, cuando las glándulas fueron pesadas inmediatamente después de la exposición al NF, pesaron más que cuando éstas

fueran pesadas luego del consumo de sacarosa. Probablemente, el peso de las glándulas adrenales se incrementó en respuesta a la exposición más reciente al nado forzado que funcionó como un estresor agudo, al contrario de aquellos animales que pasaron por último por la prueba de consumo de sacarosa que, según el protocolo aquí utilizado, tenía una duración de cuatro días. En este caso (NF+CS), el efecto estresor de la exposición al nado forzado pudo haber sido compensado por el consumo durante cuatro días de exposición a la prueba de consumo, el cual pudo haber contrareestado el efecto estresor del nado forzado, no incrementando el peso de la glándula adrenal.

Dichos resultados concuerdan con muchos otros reportados en la literatura demostrando que la exposición aguda o crónica a situaciones estresantes puede producir aumento en el peso de las glándulas adrenales como resultado de la activación del sistema HHA (Grippe et al, 2005; Henkel et al. 2002; Hilakivi, Turkka, Lister, & Linnoila, 1991; Sánchez, 2002). En este sentido, se ha demostrado que tan solo la manipulación experimental puede llegar a incrementar los niveles de glucocorticoides en ratas (Hilakivi et al. 1991). Adicionalmente, Grippe et al, (2005), utilizando ratas machos Sprague Dawley que fueron expuestas por 4 semanas a estresores impredecibles bajo condiciones de continua iluminación durante la noche, inclinación de la jaula, alojamiento por parejas con cama húmeda y privación de agua por 12 horas, demostraron que los animales expuestos al protocolo de estrés crónico presentaron mayores niveles de corticosterona plasmática que los animales controles no sometidos al paradigma de estresores crónicos impredecibles.

Es sabido que el estrés agudo es un proceso que favorece la interpretación y evaluación de la amenaza, del daño o la demanda en general y que con la exposición excesiva, repetitiva y prolongada en el tiempo los mecanismos adaptativos pasan de ser un mecanismo protector y de ajuste transitorio, a otro con alto poder patológico (McEwen, 2005). Desde este punto de vista, la exposición crónica al aislamiento social y el estrés incontrolable generado por la prueba de nado forzado indujo una fuerte activación del eje HHA, determinado por un incremento de la secreción adrenal (Henkel et al. 2002; Sánchez, 2002). En este sentido, se ha demostrado que la exposición a estresores provoca un aumento en los niveles plasmáticos de corticosterona, y en el caso de ser prolongado origina una hiperfuncionalidad de las glándulas adrenales que aumentan su peso (Sánchez, 2002). Adicionalmente, se ha demostrado que la baja previsibilidad de la situación aversiva significativa puede inducir la activación del sistema HHA (Henkel et al. 2002; Konkle et al. 2003; Stout, Mortas, Owens, Nemeroff & Moreau, 2000). Lo anterior refleja la

importancia del papel que desempeñan las glándulas adrenales secretando glucocorticoides, al hacer algo más que ayudar al animal a reaccionar frente a una situación estresante; le ayuda a sobrevivir (Carlson, 2005).

A pesar de que se pudo demostrar claramente en el presente estudio que el aislamiento social crónico produjo un comportamiento de “tipo anhedónico” en la prueba de consumo de sacarosa, no se pudo concluir nada con respecto a la desesperanza aprendida, ya que el comportamiento 0, definido operacionalmente como inmovilidad en el presente estudio, no fue reproducible entre los evaluadores, imposibilitando por supuesto, encontrar correlaciones estadísticamente significativas entre anhedonia y desesperanza aprendida. Estos resultados deben ser discutidos con precaución, principalmente, porque existen algunas reflexiones relacionadas con la utilización de este modelo. La principal se relaciona con el propuesto por Borsini y Meli (1988), para quienes el nado forzado no evalúa el comportamiento de desesperanza aprendida, pero si la respuesta al estrés.

Otra reflexión importante se relaciona con la cepa utilizada, peso y edad de los animales y las dimensiones del aparato. Efectivamente, se ha demostrado que algunas cepas son más sensibles que otras. Por ejemplo, Paré (1994) evaluó las cepas de ratas Wistar Kyoto y Wistar y demostró que la cepa Wistar Kyoto es más susceptible al estrés producido por el nado forzado, una vez que, en la prueba de nado forzado, presentaron un aumento significativo en el tiempo de inmovilidad en comparación con la cepa Wistar, sugiriendo que la cepa Wistar Kyoto es útil para estudiar el comportamiento depresivo. En concordancia, Hall, Huang, Fong y Perl (1998) observaron en sus estudios que las ratas Fawn Hooded fueron, consistente y sustancialmente, más activas que las ratas Wistar en la prueba de nado forzado. Desde este punto de vista, el hecho de haber utilizado ratas Wistar en el presente estudio, las cuales según Paré (1994) son menos susceptibles al estrés, podría explicar la falta de efecto del estresor aquí utilizado (alojamiento individual crónico) sobre el perfil de las ratas en el nado forzado.

Por otro lado, si bien la elección de las medidas del cilindro de la prueba de nado forzado en la presente investigación se realizó con base a las utilizadas por Borsini y Meli (1988), los animales utilizados eran más pesados que los utilizados por dichos autores, quienes evaluaron ratas con 180g; fueron evaluadas ratas adultas que parecen ser poco susceptibles a los cambios emocionales producidos por el estrés. En concordancia, Yates et al. (1991) al investigar la desesperanza aprendida o inmovilidad en la prueba de nado

forzado en ratones jóvenes y adultos, demostraron que no hubo evidencias del comportamiento de desesperanza en ratones adultos. Según dichos investigadores, los mecanismos emocionales que promueven la desesperanza aprendida son altamente sensibles durante las primeras semanas de nacimiento del animal. Adicionalmente, sugieren que los animales adultos no son altamente susceptibles a los cambios emocionales producto del estrés, por lo tanto, al ser evaluados en la prueba de nado forzado no presentan el comportamiento de desesperanza aprendida.

Adicionalmente, se ha demostrado que el tiempo de inmovilidad cambia en función de la profundidad del agua, el diámetro del cilindro, el peso del animal y la duración del test. Desde este punto de vista, los resultados de la presente investigación con relación a la prueba de nado forzado, podrían ser explicados por las relaciones entre dichas variables. A favor de esta idea, una investigación realizada por Yates et al, (1991), cuando la profundidad excedió los 30 cm, se presentó una disminución en el tiempo de inmovilidad, mientras que cuando le fue permitido a los animales tocar el fondo del contenedor estos aprendieron a adaptarse a la situación, por lo cual evidenciaron un aumento en la inmovilidad. A esto, los autores agregan que cuando el cilindro tiene medidas pequeñas para la talla y peso del animal, hecho que se aplica al presente estudio, el comportamiento evidenciado podría interpretarse con cautela, al menos, bajo la suposición de que la inmovilidad refleja una respuesta condicionada en la medida que aprende adaptarse a la situación estresante. Finalmente, aunque pocos autores han hablado de la duración del test, se ha mostrado que el tiempo tradicionalmente utilizado de 5 minutos en un cilindro pequeño no es efectivo para evidenciar el comportamiento de desesperanza aprendida (Yates et al, 1991), tiempo que fue utilizado en el protocolo experimental implementado en el presente estudio.

Otras variables también podrían explicar nuestros resultados, ya que existen otras críticas a la prueba de nado forzado. Una de ellas se refiere el criterio subjetivo con el cual el experimentador mide inmovilidad en este modelo (Borsini & Meli, 1988; Nomura et al. 1982) y la otra se relaciona con la definición operacional de los comportamientos utilizados como indicadores de desesperanza aprendida en la prueba de nado forzado, la cual carece de objetividad.

Algunos investigadores registran inmovilidad cuando el animal realiza los movimientos mínimos necesarios para mantener la cabeza sobre el agua (Ariza, Rincón & Guerrero,

2006; Borsini & Meli 1988; Heritch, Henderson & Wesfall 1990; Hilakivi et al. 1991). En este caso el concepto de “mínimo” puede variar dependiendo del experimentador. Otros evalúan la inmovilidad como un comportamiento de flote en el agua sin movimiento de ninguna de las patas y con la cabeza sobre el nivel del agua (Andreatini & Bacellar, 1999; Paré, 1993). Por su parte, Porsolt et al. (1979), incluyen en el movimiento de flote la postura corvada en posición vertical del roedor. Otra interpretación encontrada en la literatura ha sido dada por Hansen, Sanchez y Meier (1997), quienes la registran cuando el animal flota pasivamente en el agua. Entre tanto, Yates et al. (1991), evalúan de dos formas la inmovilidad de los animales: por una parte, como ausencia de movilidad y/o movimientos ligeros (absolutamente subjetivo) con el fin de mantener su nariz en la superficie del agua, mientras que Strekalova et al (2004) caracterizan el comportamiento de inmovilidad como ausencia total de movilidad. Como consecuencia, De Pablo et al. (1989) emplearon instrumentos electrónicos que evalúan la inmovilidad de acuerdo a las variaciones producidas por el nado (cambios de voltaje e intensidad).

Adicionalmente, con la utilización del modelo de nado no solo se presentan ambigüedades con relación a la definición operacional del comportamiento de inmovilidad y subjetividad del evaluador, también se presentan otros aspectos que ponen en duda la confiabilidad del test. Según Nomura et al. (1982), el modelo de nado forzado no es susceptible al *screening* de fármacos “falsos positivos”. A su vez, existen variaciones en torno a la interpretación del comportamiento de inmovilidad como respuesta adaptativa y ahorro de energía más no como desesperanza (Hilakivi et al. 1988) que, además, podría verse reflejada como un comportamiento mediado por el aprendizaje en modelos animales, como fue señalado por diferentes investigadores, de que la rata asume un comportamiento de pasividad ante la situación, aprendiendo que al igual que en la primera sesión, el experimentador vendrá a retirarlo de dicha circunstancia. Por lo anterior se infiere que los procesos de aprendizaje y memoria están involucrados en los cambios comportamentales observados en el nado forzado (inmovilidad o movilidad) (De Pablo et al. 1988; De Pablo & Guillamon, 1992;).

En conjunto, todo lo anterior sugiere que la variabilidad de conjeturas en torno a la caracterización conceptual de inmovilidad evita una evaluación y registro objetivo que aporte a la validez del modelo de desesperanza aprendida. En consecuencia, algunos autores (Cryan, Mombereau & Vassout, 2005; Vaugeois et al. 1997) proponen que la prueba de suspensión de la cola podría ser un procedimiento alternativo que evitaría varios

problemas encontrados en el modelo de nado forzado, ya que este parece medir objetivamente la inmovilidad.

Conclusiones

De manera general, las ratas sometidas a aislamiento social crónico (21 días) manifestaron un comportamiento de tipo anhedónico, caracterizado por un aumento en el consumo de altas concentraciones de sacarosa al 32%. Adicionalmente, manifestaron un aumento del peso de las glándulas adrenales cuando fueron pesadas inmediatamente después de la exposición al modelo del nado forzado, demostrando la importancia del estresor crónico y de la intensidad del estímulo estresor en la producción del perfil anhedónico. Sin embargo, con base en los resultados utilizados para el análisis comportamental (las variables con buena reproducibilidad inter evaluador) hasta el momento no se puede concluir nada en relación con modelo de desesperanza aprendida, que aquí hace alusión al comportamiento 0 y cuyo registro no fue reproducible entre los evaluadores. Finalmente, si bien los resultados del presente estudio fortalecen la hipótesis de que el incremento en el consumo de soluciones de sacarosa más concentrada está asociado a una baja sensibilidad a la recompensa, no se pudo demostrar la coexistencia de indicadores de anhedonia y desesperanza aprendida con el protocolo experimental utilizado.

Recomendaciones

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se sugiere evaluar, en futuros experimentos, si el aumento en el consumo de soluciones de sacarosa altamente concentradas (32%) producido por el aislamiento social crónico, puede ser revertido por antidepresivos. Adicionalmente, considerando la participación del sistema mesolímbico dopaminérgico como uno de los mecanismos principales involucrados con el elevado consumo de soluciones muy concentradas, se sugiere utilizar fármacos antidepresivos que actúen sobre dicho sistema.

Finalmente, se recomienda tener precaución con respecto a la utilización del modelo del nado forzado como *screening* de fármacos antidepresivos o como herramienta para el

estudio de la neurobiología de la depresión. Con miras a explorar la objetividad del registro de las variables comportamentales en el modelo del nado forzado, se recomienda un análisis intra e inter evaluadores o la comparación con un gol estándar (si es que existe) con el propósito de confirmar la reproducibilidad de las mismas.

Lista de Referencias

- Abramson, L. Y. & Seligman, M. E. P. (1989). Modelin Psychopatology in the laboratory: History an rationale. En Maser, J. D. & Seligman, M. E. P. (Eds.), *Psycopatology: experimental models* (pp. 1-26). San Francisco: Freeman.
- Alguacil, L., Álamo, C. & Iglesias. V. (1996). Contribución de los estudios preclínicos al conocimiento y terapéutica de la depresión. *Psicothema*, 8(3), 657-667.
- American Psychiatric Association (APA), (2002). Manual Diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales *DSM – IV TR*. Barcelona: Masson.
- Andreatini, R. & Bacellar, L. F. S. (1999). The relationship between anxiety and depression in animal models: A study using the forced swimming test and elevated plus-maze. *Braz J Met Biol Res*, 32(9), 1121-1126.
- Arakawa, H. (2005). Interaction between isolation rearing and social development on exploratory behavior in male rats. *Behavioural Processes*, 70, 223-234.
- Argyroupoulos, S. V. & Nutt, D. J. (1997) anhedonia and cronic mild stress model in depression. *Psychopharmacology*, 134, 333-33.
- Ariza, S., Rincón, J. & Guerrero, M. (2006). Efectos sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y fracciones de *Hygrophila tytttha* Leonard. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm*, 35(1), 106-119.
- Auriacombe, M., Reneric, J. P., y Le Moal, M. (1997). Animal models of anhedonia. *Psychopharmacology*, 134, 337-338.
- Becerra, D. (2003). Efecto de la privación social en la agresión y la ansiedad de ratas machos wistar. *Acta Colombiana de Psicología*, 9, 39-49.
- Beck, A. T., Steer, R. A., Kovacs, M. & Garrison, B. (1985). Hopelessness and eventual suicide: a 10-year prospective study of patients hospitalized with suicidal ideation. *Am J Psychiatry*, 142, 559-563.
- Bland, J. M. & Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement, *Lancet*, 307-310.

- Bogdan, R. & Pizzagalli, D. A. (2006). Acute Stress Reduces Reward Responsiveness: Implications for Depression. *Biological Psychiatry*, 60(10), 1147-1154.
- Borsini, F. & Meli, A. (1988). Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*, 94, 147-160.
- Botelho, S. & Conde, C. (2001). Modelos Animales para el Estudio de la Ansiedad y la Depresión. *Revista de 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. *Behavioral processes*, 74, 357-362.
- Botelho, S., Martínez, J. & Conde, C. (2008). Evaluación de las Manifestaciones Comportamentales de Tipo “Depresión-Ansiedad” en Ratas Sometidas al Aislamiento Social Crónico. Datos no Publicados.
- Brennan, K., Roberts, D. C. S., Anisman, H. & Merali, Z. (2001). Individual differences in sucrose consumption in the rat: Motivational and Neurochemical correlates of hedonia. *Psychopharmacology*, 157, 269-276.
- Brotto, L. A., Gorzalka, B. B. & LaMarre, A. K. (2001). Melatonin protects against the effects of chronic stress on sexual behaviour in male rats. *Neuroreport*, 16, 3465-3469.
- Brown, S. (2001). Diferencias de diagnóstico en anhedonia social: Un estudio longitudinal de la esquizofrenia y del desorden depresivo importante. *Journal of Abnormal Psychology*, (110).
- Bruner, C. & Vargas, I. (1994). The activity of rats in a swimming situation as a function of water temperature. *Physiol Behav*, 55, 21-28.
- Carlson, N. R. (2005) *Fisiología de la conducta en Trastornos por Estrés*. (pp. 620-632). México: Pearson
- Charney, D. S. & Nestler, E. J. (2006). *Neurobiology of mental illness*. (pp. 491-511) Estados Unidos: Oxford Univ Press.
- Cheeta, S., Ruig, G., Van Proosdij, J. & Willner, P. (1997). Changes in sleep architecture following chronic mild stress. *Biol Psychiatry*, 41, 419-427.

- Chen, P., Hsieh, CH., Su, K., Hou, Y., Chiang, H., Lin, I. & Sheen, L. (2008). The antidepressant effect of *Gastrodia Elata* Bl on the forced-swimming test in Rats. *The American Journal Of Chinese Medicine*, 36(1), 95-106.
- Cilia, J., Reavill, C., Hagan, J. J. & Jones, D. N. C. (2001). Long-term evaluation of isolation-reared prepulse inhibition deficits in rats. *Psychopharmacology*, 156, 327–337.
- Coello, R. (1980). Enfermedad depresiva menor. *Rev. Medica Honduras*, 48, 11.
- 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.
- Corsi, M. (2004) Aspectos Psicobiológicos de la Psicología ambiental. En Corsi, M. (2004). *Aproximaciones de las Neurociencias a la Conducta*. (pp. 95-105). Manual Moderno.
- Cortez, M. L., Conde, C. & Botelho, S. (2005). Efecto del alojamiento individual sobre las manifestaciones comportamentales de "tipo depresivo-ansioso" en ratas. *Iatreia*, 18, 4.
- Cryan, J. F., Mombereau, C. & Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci biobehav Rrv*, 29, 571-625.
- Dantzer, R., Wollman, E., Vitkovic, L. & Yirmiya, R. (1999). Cytokines and depression: fortuitous or causative association? *Molecular Psychiatry*, 4, 328–332.
- D'Aquila, P. S., Brain, S. & Willner, P. (1994). Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiol Behav*, 56, 861-867.
- De Pablo, J. M. & Guillamon, A. (1992). Validez de la Prueba de Natación Forzada como modelo animal de Depresión. *Revista de Psicología General y Aplicada*, 45, 2.
- De Pablo, J., Parra, A., Segovia, S. & Guillamon, A. (1988). Learned immobility explains the behaviour of rats in the forced swimming test. *Physiology & Behaviour*, 46, 229-237.
- Duman, R. S., Heninger G. R. & Nestler E. J. (1997). A molecular and cellular theory of depression. *Arch. Gen. Psychiatr*, 54, 597–606.

- Escudero, J. (2006). Depresión mayor: reflexiones históricas y marco teórico de su relación con enfermedades cardiovasculares. Barquisimeto, Venezuela: Universidad Centro-Occidental "Lisandro Alvarado".
- Fernández, V. (2000). *Modelos animales de Psicopatología*. Recuperado el 13 de Noviembre del 2008, de la fuente <http://www.elementos.buap.mx/num36/pdf/29.pdf>
- 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(4), 346-352.
- Frick, L. (2004). Expresión Diferencial de Genes en el Hipocampo de Roedores en Modelos de Estrés Crónico. *Instituto de Investigaciones Biotecnológicas*, 4 -7.
- Fulford, A. J. & Marsden, A. (1998). Effect of isolation-rearing on conditioned dopamine release in vivo in the nucleus accumbens of the rat. *Journal of neurochemistry*, 70(1), 384-390.
- García, C. & Armario, A. (1986). Chronic Stress Depresses Exploratory Activity and Behavioral Performance in the Forced Swimming test without altering ACTH Response to a novel acute stressor. *Physiology and Behavior*, 40, 33-38.
- Garzón J. & Del Río J. (1981). Hyperactivity induced in rats by long term isolation: further studies on a new animal model for the detection of antidepressants. *Eur J Pharmacol*, 74, 287-294.
- Gómez, B. & Escobar, A. (2006). Estrés y Sistema Inmune. *Rev Mex Neuroci*, 7(1), 30-38.
- Gómez, C., Bohórquez, A., Pinto, D., Gil, J. F. A., Rondón, M. & Díaz, N. (2004). Prevalencia de depresión y factores asociados con ella en la población colombiana. *Rev panam Salud Publica*, 16(6), 379.
- Gómez, C., Saldivar, J. A. & Rodríguez, R. (2002). Modelos Animales para el estudio de Ansiedad: Una aproximación crítica. UNAM.
- Guadarrama, L., Escobar, A. & Zhang, L. (2006). Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. *Rev Fac Med*, 49(2), 66-72.

- Gutiérrez, A., Contreras, C. & Díaz, J. L. (2000). Como actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central. *Salud Mental*, 23(2), 42-48.
- Gutiérrez, A. & Contreras, C. (2008). El suicidio y algunos de sus correlatos neurobiológicos. *Salud Mental*, 31, 321-330.
- 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.
- Grippe, A., Francis, J., Beltz, T. G., Felder, R. B., Felder. & Johnson, A. K. (2005). Neuroendocrine and cytokine profile of chronic mild stress-induced anhedonia. *Physiology & Behavior*, 84, 697-706.
- Hall, F. S., Humby, T., Wilkinson L. S. & Robbins T. W. (1996). The Effects of Isolation Rearing on Sucrose Consumption in Rats. *Physiology & Behavior*, 62(2), 291-297.
- Hall, F. S., Wilkinson, L. S., Humby, T., Inglis. W., Kendall, D. A., Marsden, C. A. & Robbins, T. W. (1997). Isolation Rearing in rats: Pre- and Postsynaptic Changes in Striatal Dopaminergic Systems. *Psychopharmacology Biochemistry and Behaviour*, 59(4), 859-872.
- Hall, F. S., Huang, S., Fong, G. F. & Perl, A. (1998). The effects of social isolation on the forced swimming test in fawn hooded and wistar rats. *Journal of Neuroscience methods*, 79, 47-51.
- Hansen, H. H., Sanchez, C. & Meier, E. (1997). Neonatal administration of the selective serotonin reuptake inhibitor Lu 10-134-C increases forced swimming – induced immobility in adults rats. A putative animal model of depression. *The journal Of pharmacology and experimental therapeutics*, 283, 1333-1341.
- Harkin, A., Houlihan, D. D. & Kelly, J. P. (2002). Reduction in preference for saccharin by repeated unpredictable stress in mice and its prevention by imipramine. *J Psychopharmacol*, 16, 115-123.
- Hatch, A. M., Wiberg, G. S., Zawadzka, Z., Cann, M., Airth J. M. & Grice, H. C. (1964). Isolation syndrome in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 7(5), 737-745.

- Heffner, T. G., Zigmond, M. G. & Stricker, E. M. (1977). Effects of dopaminergic agonists and antagonists of feeding in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 201, 386-399.
- 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(4), 749-768.
- Henkel, V., Bussfeld, P., Moler, H. J. & Hegerl, U. (2002). Cognitive- Behavioural theories of helplessness/hopelessness: Valid models of depression? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 252, 240-249.
- Henningsen, K., Andreasen, J. T., Bouzinova, E. V., Jayatissa, M. N., Jensen, M. S., Redrobe, J. P. & Wiborg, O. (2009). Cognitive deficit in the rat chronic mild stress model for depression: relation to anhedonic-like responses. *Behavioral brain research*, 198, 136-141.
- Heritch, A. J., Henderson, K. & Wesfall, T. C. (1990). Effects of social isolation on brain. Catecholamines and forced swimming in rats: prevention by antidepressant treatment. *J Psychiat Res*, 24(3), 251-258.
- Hernandez, L. & Hoebel, B. (1988). Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens. *Physiol Behav*, 44, 599-606.
- Hernandez, L., Guzman, N. & Hoebel, B. (1991). Bidirectional microdialysis in vivo shows differential dopaminergic potency of cocaine, procaine and lidocaine in the nucleus accumbens using capillary electrophoresis for calibration of drug outward diffusion. *Psychopharmacology*, 105, 264-268.
- Hilakivi, L. A., Ota, M. & Lister, R. G. (1989). Effect of isolation on brain monoamines and the behavior of mice in test of exploration, locomotion anxiety and behavioral despair. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 33, 371-374.
- Hilakivi, L. A., Turkka, J., Lister, R. G. & Linnoila, M. (1991). Effects of early postnatal handling on brain β -adrenoceptors and behavior in tests related to stress *Brain Research*, 542(2-1), 286-292.

- Hout, R., Thirivikraman, 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.
- 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. *Biol. Pharm. Bull*, 26(2), 170-181.
- Jiménez, T., Gutiérrez, A., Domínguez, L. & Contreras, C. (2008). Estrés psicosocial: Algunos aspectos clínicos y experimentales. *Anales de psicología*, 24(2), 353-360.
- Kalueff, A., & Nutt, D. (2007). Role of Gaba in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, 24, 495-517.
- Katz, R. J. (1981). Animal models of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacol biochem behave*, 16, 965-968.
- Kessler, R. C., McGonagle, K. A., Zhao, S., Nelson, C. B., Hughes, M., Eshleman, S., Wittchen, H. U. & Kendler, K. S. (1994). Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry*, 51(1), 8-19.
- Kim, W. & Yoon, M. (1998). Initial singularity free quantum cosmology in two-dimensional Brans-Dicke theory. *Phys. Rev*, 58.
- Kim, J. J. & Diamond, D. M. (2002). The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature Rev Neurosci*, 3, 453- 462.
- Kitada, Y., Miyauchi, T., Kossasa, T. & Satoh, S. (1983). Further studies on the suppressing effect of isoproterenol on the immobility-reducing action of desipramine in the forced swimming test. *Japan. J. Pharmacol*, 33, 867-873.
- Kitamura, Y., Araki, H., Nagatani, T., Takao, K., Shibata, K. & Gomita, Y. (2004). Influence of imipramine on the duration of immobility in chronic forced swimming stressed rats. *Acta medica okayama*, 58, 271-274.

- Kompagne, H., Bárdos, G., Szénási, G., Gacsályi, I., Hársing, L. G. & Lévy, G. (2008). Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats. *Behav Brain Res*, 193(2), 311-314.
- Konkle, A. T., Baker, S. L., Kentner, A. C., Barbagallo, L. S., Merali, Z. & Bielajew, C. (2003). Evaluation of the effects of chronic mild stressors on hedonic and Physiological responses: sex and strain compared. *Brain res*, 992, 227-238.
- 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.
- León, R. (2007). Depresión inducida por estrés emocional o ¿Estado de “Agotamiento Nervioso”? *Rev Soc Perú Med Interna*, 20, 150.
- Lister, R. G. & Hilakiv, L. A. (1988). The effects of novelty, isolation, light and ethanol on the social behaviour of mice. *Psychopharmacology*, 96, 181-187.
- López, C. (2000). *Genética de la Depresión*. Universidad de Antioquia. Recuperado 16 de octubre de 2008. De la fuente <http://www.psiquiatriabiologica.org.co/avances/vol1/articulos/articulo06.pdf>.
- Lukkes, J. D., Mokin, M. V., Scholl, J. L. & Forster, G.L. (2009). Adult rats exposed to early-life social isolation exhibit increased anxiety and conditioned fear behavior, and altered hormonal stress responses. *Hormones and Behavior*, 55, 248–256.
- Martin, P. & Baterson, P. (1987). Preliminaries to measuring behavior, en Martin, P. & Baterson, P. (1987). *Measures behavior*. (pp. 36-37). Cambridge Univ. Press.
- Masi, F., Scheggi, S., Mangiavacchi, S., Tolu, P., Tagliamonte, A., De Montis, M. G. & Gambarana C. (2001). Dopamine output in the nucleus accumbens shell is related to the acquisition and the retention of a motivated appetitive behavior in rats *Brain Research*, 903(1-2), 102-109.
- Matthews, K. & Robbins, D. K. (2003). Early experience as a determinant of adult behavioral responses to reward: The effects of repeated maternal separation in the rat, *Neurosci Biobehav Rev*, 41, 422–427.

- McEwen, B. S. (1999). The Molecular and Neuroanatomical Basis for Estrogen Effects in the central nervous system. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(6), 1790-1797.
- McEwen, B. S. (2000). Allostasis and allostatic load: Implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*, 22, 108-124.
- McEwen, B. S. (2005). Stressed or stressed out: What is the difference?. *J Psychiatry Neurosci*, 30, 315-318.
- McEwen, B.S. & Stellar, E. (1993). Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Archives of Internal Medicine*, 153, 2093-2101.
- McEwen, B. S. & Sapolsky, R. M. (1995). Stress and cognitive function. *Current Opinion in Neurobiology*, 5, 205-216.
- McKinney, W. T. & Bunney, W. E. (1969). Animal model of depression: Review of evidence and implications for research. *Arch. Gen. Psychiatr*, 21, 240-248.
- Mercier S, Frédéric, Canini, Buguet, A, Cespuglio, R, Martin, S. & Bourdon, L. (2003). Behavioural changes after an acute stress: stressor and test types influences. *Behav Brain Res*, 139(1-2), 167-75.
- Molina, M., Téllez, P. & García, P. (2001). Isolation rearing induced fear-like behavior with affecting learning abilities of wistar rats. *Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 25, 1111-1123.
- Montes, C. (2004). La depresión y su etiología: una patología compleja. 2-3-10. Recuperado el 13 de Junio del 2008. En la fuente, <http://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeDieciocho/Articulos/Psiquiatria/ArchivosPDF/psiquiatria.pdf>
- Moreau, J. L., Scherschlicht, R., Jenk, F. & Martin, J. R. (1995). Chronic mild stress-induced anhedonia model of depression; sleep abnormalities and curative effects of electroshock treatment. *Behav Pharmacol*, 6, 682-687.
- Morén, P. (2007). *La investigación del estrés en humanos carece de objetividad*. Barcelona: Unidad Editorial.
- Moscoso, M. S. (1998). Estrés salud y emociones: estudio de la ansiedad, cólera y hostilidad. *Revista de Psicología*, 3, 9-17.

- Moreau J. L. (1997). Validation of an animal model of anhedonia, a major symptom of depression. *Encephale*, 23, 280-289.
- Muscat, R., Sampson, D. & Willner, P. (1990). Dopaminergic mechanism of imipramine action in an animal model of depression. *Biol Psychiatry*, 28, 223-230.
- Muscat, R., Papp, M. & Willner, P. (1992) Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and maprotiline. *Psychopharmacology*, 109, 433-438.
- National Institutes of Mental Health (2004). *Depresión*, Public Health Service. 04-3561.
- Nomura, S., Shimizu, J., Kinjo, M., Kametani, H. & Nakazawa, T. (1982). A new behavioral test for antidepressant drugs. *European Journal of Pharmacology*.
- Olmedo, B. A., Torres, J., Velasco, R., Mora, A. & Blas, L. A. (2006). Prevalencia y severidad de depresión en estudiantes de enfermería de la Universidad de Colima. *Rev Enferm IMSS*, 14(1), 17-22.
- Organizacion Mundial de la Salud (OMS). Mental and Neurological disorders. Recuperado el 18 de Noviembre de 2008. En línea, <http://www.who.int/topics/depression/es/>.
- Owens, M. J. & Nemeroff, C. B. (1994). Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin. Chem*, 40, 288-295.
- Papp, M., Willner, P. & Muscat, R. (1991). An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology*, 104, 255-259.
- Papp, M., Willner, P. & Muscat, R. (1993). Behavioural sensitization to a dopamine agonist is associated with reversal of stress-induced anhedonia. *Psychopharmacology*, 110, 159-164.
- Paré, W. (1994). Open Field, Learned helplessness, conditioned defensive Burying and forced swimming test in WKY rats. *Physiology and behavior*. 55, 433-439.
- Parra, A., Vinader-Caerols, C., Monleón, S. & Simón, V. (1999). Learned Immobility Is Also Involved In The Forced Swimming Test In Mice. *Psicothema*, 11, 239-246.
- Phillips, A. G., Blaha, C. D. & Fibiger, H. C. (1989). Neurochemical correlates of brain-stimulation reward measured by *ex vivo* and *in vivo* analyses. *Neurosci Biobehav Rev* 13, 99-104.

- Phillips, A. G. & Barr, A. M. (1997). Effects of chronic mild stress on motivation for sucrose: mixed messages. *Psychopharmacology*, 134(4), 361-362.
- Pinel, J. (2001). Biopsicología. Modelos animales de enfermedades neuropsicológicas humanas. Pp: 176-181.
- 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. *Mol Psychiatry*, 9, 325–393.
- Porsolt, R., Bertin, A., Blavet, N., Deniel, M. & Jalfre, M. (1979). Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *European Journal of Pharmacology*, 57, 201-210.
- Rodríguez, E. (2007). Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. *Acta Bioethica*, 13(1), 25-40.
- Roso, M., Alonso, C. & Brugue, M. (2008). El sistema dopaminérgico en las adicciones. *Mente y Cerebro*, 1-9.
- Rot, M. Mathew, S. & Charney, D. (2009). Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *Canadian Medical Association or its licensors (CMAJ)*, 180(3), 305-313.
- Rudelin, M. (1999). Abordaje clínico de la depresión. *Avances en Medicina*. 3.
- Rygula, R., Abumaria, N., Domenici, E., Hiemke, C. & Fuchs, E. (2005). Effects of fluoxetine on behavioral deficits evoked by chronic social stress in rats. *Behav Brain Res*, 174(1), 188-192.
- 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.
- Sakakibara, H., Ishida, K., Izawa, Y., Minami, Y., Saito, S., Kawai, Y., Butterweck, V., Tamakí, T., Nakaya, Y & Terao, J. (2005). Effects of forced swimming stress on rat brain function. *The journal of medical investigation*, 52, 300-301.
- Sammur, S., Bethus, I., Goodall, G. & Muscata, R. (2002). Antidepressant reversal of interferon- α -induced anhedonia. *Physiology & Behavior*, 75, 765–772.

- Sano, M. (1991). Basal ganglia diseases and depression. *Neuropsychiatr Neuropsychol Behav Med*, 4, 41–48.
- Sánchez, M. M. (2002). Estudio del efecto del aislamiento social sobre centros cerebrales implicados en el control de la secreción adrenocortical de la rata. Recuperado en 21 de Octubre de 2008. Disponible en <http://eprints.ucm.es/tesis/19911996/X/3/X3023401.pdf>
- Sánchez, R., Cuervo, J. & Rey, T. (2005). Niños, Adolescentes y Depresión Mayor. Detección y Tratamiento. *Centro de Salud Urbano I Mérida*, 7.
- Schulkin, J., McEwen, B. S. & Gold, P. W. (1994). Allostasis, amygdala, and anticipatory angst. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 18, 385–396.
- Seligman, M. E. P. & Beagley, G. (1975). Learned Helplessness in the rat. *J. Comp. Psychol*, 88, 534-541.
- Sillaber, I. & Holsboer, F. (2004). Animal models of mood disorders. En Charney, D. & Nestler, E. (Eds). *Neurobiology of Mental Illness*. (pp. 380-396).
- Stout, S. C., Mortas, P., Owens, M. J., Nemeroff, C. B. & Moreau, J. (2000). Increased corticotrophin-releasing factor concentrations in the bed nucleus of the stria terminalis of anhedonic rats. *Eur J Pharmacol*, 401, 39-46.
- Streklova, T., Spanagel, R., Bartsch, D., Henn, F. & Gass, P. (2004). Stress-Induced Anhedonia in mice is associated with Deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology*, 29, 2007-2017.
- Treit, D. (1985). Animal Models for the Study of Anti-Anxiety Agents: A Review. *Neuroscience & Behavioural Reviews*, 9, 203-222.
- Ursin, H. & Olf, M. (1993). Psychobiology of coping and defence strategies. *Neuropsychobiology*, 28(1-2), 66–71.
- Van Praag, H. M., Asnis, G. M., Kahn, R. S., Brown, S. L., Korn, M., Friedman J. M. & Wetzler, S. (1990). Monoamines abnormal behavior. A multi-aminergic perspective, *Brit J Psychiatry*, 157, 723–734.
- Vasar, E. Peuranen, J. Harro, A. Lang, L. Oreland, P. & Mannisto, P. T. (1993). Social isolation increases the density of cholecystinin receptors in the frontal cortex and

- abolishes the antiexploratory effect of caerulein. *Naunyn-Schmied, Arch Pharmacol*, 348, 96–100.
- Vaugois, J., Pasera, G., Zuccaro, F. & Costentín, J. (1997). Individual differences in response to imipramine in the Mouse tail suspension test. *Psychopharmacology*, 134, 387–391.
- Wang, G. J., Volkow, N. D., Telang, F., Jayne, M., Ma, J., Rao, M., Zhu, W., Wong, C. T., Pappas, N. R., Geliebter, A. & Fowler J. S. (2004). Exposure to appetitive food stimuli markedly activates the human brain. *NeuroImage*, 21(4), 1790-1797.
- Weiss, I. C., Feldon, J. & Domeney, A. M. (1999). Isolation rearing-induced disruption of prepulse inhibition: further evidence for fragility. *Psychopharmacology*, 156, 327–337.
- Weiss, I. C. & Feldon, J. (2001). Environmental animal models for sensorimotor gating deficiencies in schizophrenia: a review. *Psychopharmacology*, 156, 305–26.
- Weiss, I., Pryce, C., Jongen, A., Nanz-Bahr, N. & Feldon, J. (2004). Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*, 152, 279–295.
- West, A. P. (1990). Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 14(6), 863–877.
- Willner, P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, 83, 1–16.
- Willner, P. (1990). Animal models of depression: An review. *Pharmacology and Therapeutics*. 45, 425-455.
- Willner, P. (1991). Animal models as simulations of depression. *Trends Pharmacol Sci*, 12, 131-22.
- Willner, P. (1995). Animal models of depression: Validity and applications. En Gessa, G., Fratta, W., Pani, L., Serra, G. (eds). *Depression and mania: From Neurobiology to treatment.* Raven press. (pp. 19-41). New York.

- Willner, P. (2005). Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52(2): 90-110.
- Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S. & Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 93, 358-364.
- Xiaohong, Z., Lei, S., Hongxiao, J., Qingxuan, M., Si, W., Nanxin, L. & Shuchang, H. (2009). Isolation rearing induces social and emotional function abnormalities and alters glutamate and neurodevelopment-related gene expression in rats. *Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 19(14), 1377-1380.
- Yates, G., Panksepp, J., Ikemoto, S., Nelson, E. & Conner, R. (1991). Social Isolation effects on the "Behavioral Despair" forced swimming test: Effect of age and duration of testing. *Physiology & Behavior*, 49, 347-353.
- Zaretsky, A.E., Fava, M., Davidson, K. G., Pava, J. A., Matthews, J. & Rosenbaum J. F. (1997). Are dependency and self-criticism risk factors for major depressive disorder. *Can J Psychiatry*, 42, 291-297.