



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CARRERA DE PSICOLOGÍA**

**IMPACTO DE LA ESTIMULACIÓN MECÁNICA DEL  
NERVIO VAGO Y EL KINDLING EN LA CORTEZA  
PREFRONTAL VENTROMEDIAL EN LAS RESPUESTAS  
TIPO DEPRESIVAS EN RATAS**

**T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA  
P R E S E N T A:  
LUIS FERNANDO VILLA MALDONADO**

**JURADO DEL EXAMEN**

**DIRECTOR: DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL  
COMITÉ: DR. EDUARDO ALEJANDRO ESCOTTO CORDOVA  
DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ  
DRA. LILIA MESTAS HERNANDEZ  
DR. DANIEL ROSAS ALVAREZ**



**CIUDAD DE MÉXICO**

**MARZO 2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Índice

1	Resumen .....	3
2	Introducción .....	4
3	Depresión .....	4
3.1	Bases neurales de la depresión .....	6
3.1.1	El sistema límbico.....	9
3.1.2	La corteza prefrontal ventromedial .....	11
3.2	Modelos animales de depresión .....	14
3.2.1	Prueba de nado forzado .....	17
3.3	Tratamientos para la depresión .....	18
4	Epilepsia.....	21
4.1	Kindling eléctrico.....	22
4.2	Tratamientos de la Epilepsia.....	23
5	Estimulación del nervio vago .....	24
6	Justificación .....	26
7	Objetivos.....	28
7.1	Objetivo general.....	28
7.2	Objetivos específicos .....	28
8	Métodos.....	29
8.1	Grupos experimentales .....	29

8.2	Procedimiento quirúrgico: .....	29
8.3	Prueba de nado forzado .....	30
8.4	Búsqueda de umbral.....	31
8.5	Kindling eléctrico.....	32
8.6	Estimulación eléctrica del nervio vago .....	32
8.7	Prueba de aversión al sabor .....	33
8.8	Prueba de campo abierto.....	33
8.9	Análisis Estadístico .....	33
9	Resultados.....	35
9.1	Evaluación de conducta de desesperanza aprendida.....	35
9.2	Evaluación de la capacidad motriz de los animales.....	36
9.3	Prueba de aversión al sabor .....	38
9.4	Desarrollo del Kindling en vmPFC .....	38
9.5	Análisis de coherencia de vmPFC y amígdala.....	40
10	Discusión.....	42
11	Bibliografía .....	46

## 1 Resumen

La depresión ha sido identificada como el trastorno psiquiátrico comórbido más frecuente en pacientes con epilepsia. La estimulación del nervio vago (VNS) es utilizada como tratamiento para casos refractarios en ambos padecimientos. El presente trabajo analizó el efecto de la VNS en la epileptogénesis de la corteza ventromedial producida por el kindling y los cambios en las conductas tipo depresivas en ratas sometidas a la prueba de nado forzado (PNF) y a la prueba de aversión al sabor (PAS). Ratas macho de la cepa Wistar (250-300g) fueron divididas aleatoriamente en cuatro grupos (Control, Kindling, Sham y VNS). Los animales del grupo control no fueron sometidos al procedimiento quirúrgico ni al protocolo kindling; los animales del grupo kindling fueron sometidos al procedimiento quirúrgico (electrodos en PrL, BLA y nervio vago) y al protocolo kindling; en el grupo sham los animales fueron sometidos al procedimiento quirúrgico (electrodos en PrL, BLA y nervio vago), pero no al protocolo kindling; el grupo VNS solo fue implantado con el electrodo del nervio vago y fue sometido al protocolo de estimulación eléctrica de nervio vago. Nuestros resultados muestran que epileptogénesis en vmPFC presenta un proceso de cambios conductuales diferente al establecido por Racine. Por otra parte, se observó un efecto antidepresivo en el grupo sham lo que concuerda con reportes anteriores en los cuales un daño en el tejido de la PFCvm produce efectos antidepresivos. Aunado a esto el análisis de coherencia entre la vmPFC y la amígdala mostró que la estimulación kindling provocó un incremento en la coherencia en ondas gama (65–100 Hz), sugiriendo un aumento en la conectividad funcional entre las dos estructuras

## **2 Introducción**

La depresión es una de las comorbilidades más comunes en pacientes con epilepsia. Aunque ambas patologías tienen en común varios sustratos neurofisiológicos, se desconoce si estos son los mismos durante su comorbilidad. Los modelos animales son una herramienta importante para investigar la epilepsia y la depresión ya que nos permiten evitar variables psicosociales. Los modelos mejor validados y más utilizados para estudiar estas dos patologías por separado son el kindling eléctrico, con el que se puede producir un foco epiléptico por medio de estimulaciones eléctricas diarias, la prueba de nado forzado, con la que se puede generar y/o medir la desesperanza aprendida, y la prueba de aversión con la cual se mide la conducta equivalente de anhedonia.

La depresión mayor es el más frecuente de los trastornos del estado de ánimo y ocurre con mayor frecuencia en pacientes con epilepsia crónica que en la población general. Dados estos hallazgos y la mayor morbilidad y mortalidad que se sabe que están asociadas con la depresión mayor, este estudio se centrará en esta condición.

## **3 Depresión**

La tristeza es un estado del ánimo inherente a la vida, como lo son la alegría o el miedo, usualmente es una fase transitoria ante la cual todo individuo está expuesto en algún momento. Sin embargo, en algunas personas esta tristeza se torna intensa, trascendente y difícil de manejar, existe entonces una alteración de la emoción, un trastorno del estado de ánimo.

Los trastornos del estado de ánimo se pueden dividir en trastornos depresivos, trastornos bipolares y dos trastornos basados en la etiología: trastornos del estado de ánimo debido a enfermedad médica y trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias. A su vez, los trastornos depresivos se dividen en trastorno depresivo mayor, trastorno distímico y trastorno depresivo no especificado (American Psychiatric Association, 2013).

La depresión se caracteriza por episodios determinados de al menos dos semanas de duración que implican cambios claros en el afecto, la cognición y las funciones neurovegetativas, y remisiones interepisódicas. Durante estos episodios se presenta una pérdida de la capacidad de experimentar placer o del interés de realizar actividades satisfactorias, reducción de la energía, alteraciones en los hábitos de sueño y apetito, sentimientos de inutilidad o culpabilidad excesiva, disminución de la capacidad para pensar, concentrarse y tomar decisiones, pensamientos de muerte e ideas suicidas recurrentes (American Psychiatric Association, 2013). Es una condición seria e incapacitante que afecta aproximadamente a 350 millones de personas en el mundo y la Organización Mundial de la Salud estima que para el año 2020 se consolidará como la segunda causa de incapacidad a nivel mundial (Bylund & Reed, 2007).

La información más antigua con la que contamos de una patología homóloga a la depresión data del siglo V aC. Desde la perspectiva hipocrática, se pensaba que los estados de ánimo dependían del equilibrio entre cuatro humores: sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra. A un exceso de esta última se le creía responsable de la melancolía, con síntomas como la aversión a la comida,

irritabilidad, cansancio y somnolencia, síntomas presentes en nuestra actual definición de depresión. En ese entonces se sugería que un prolongado miedo o tristeza pueden transformarse en melancolía (Kandel, Schwartz, & Jessell, 2000; Polaino-Lorente & Domènech, 1993).

Después de 26 siglos de la primera aproximación de Hipócrates, la etiología de este padecimiento está lejos de ser específica, pues es una amplia gama de situaciones las que pueden provocar depresión. Sin embargo, se han identificado cuatro factores de riesgo que, aparentemente, se presentan de manera constante y el nivel de evidencia sugiere que su asociación con la depresión podría ser, en efecto, causal: género, eventos estresantes, experiencias traumáticas durante la infancia y ciertos rasgos de la personalidad (Blazer, Kessler, McGonagle, & Swartz, 1994; Kessler, 1997).

### **3.1 Bases neurales de la depresión**

Los trastornos depresivos a lo largo del tiempo han sido considerados como producto de una disfunción biológica en el sistema nervioso y desde hace aproximadamente 50 años la hipótesis de las monoaminas ha aportado la mayor cantidad de información en la búsqueda del componente neurobiológico de la depresión. La teoría de las monoaminas sugiere que algunos tipos de depresión, o todos, están asociados con una deficiencia absoluta o relativa de monoaminas en algunas estructuras cerebrales.

Este encuadre en la investigación de la patofisiología de la depresión, que pone como principal objetivo a los sistemas de neurotransmisores monoaminérgicos,

tiene como origen las observaciones del efecto positivo de fármacos, en un principio usados para tratar la tuberculosis, que regulan las concentraciones intersinápticas de serotonina y noradrenalina (Charney, Buxbaum, Sklar, & Nestler, 2013; López-Muñoz, Assion, Alamo, Garcia-Garcia, & Fangamann, 2008). En los últimos años diversos estudios han intentado descifrar de manera específica las deficiencias en los sistemas monoaminérgicos en pacientes con depresión, sirviéndose de una amplia variedad de estrategias bioquímicas y neuroendocrinas. De esta forma se ha demostrado la existencia de anormalidades en los sistemas serotoninérgico, noradrenérgico y otros neurotransmisores y neuropéptidos en los sujetos con depresión (ver tabla 1) (Manji, Drevets, & Charney, 2001).

Sin embargo, aunque la información aportada por la investigación de los sistemas monoaminérgicos es valiosa y abundante, no es suficiente para determinar la patogénesis de los trastornos depresivos. Pues, aunque la mayoría de los antidepresivos actúan de manera directa sobre las concentraciones intersinápticas de serotonina y noradrenalina, los efectos antidepresivos comienzan a aparecer

Tabla 1 Evidencia directa e indirecta de múltiples sistemas implicados en la depresión

<p><b>Sistema serotoninérgico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 5-HIAA en FCE reducido</li> <li>- Reducción en la unión de [<sup>3</sup>H]IMI a plaquetas</li> <li>- Reducción de unión a receptores 5HT<sub>1A</sub> en cerebro vivo y en tejido cerebral postmortem</li> <li>- Efecto antidepressivo de agentes que incrementan 5-HT en la hendidura intersináptica</li> <li>- Efecto depresógeno de la depleción de Trp en pacientes tratados con antidepressivos</li> <li>- Los antidepressivos ocasionan un decremento en la densidad de 5HT<sub>2</sub></li> </ul> <p><b>Sistema noradrenérgico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción de MHPG en FCE</li> <li>- Disminución de respuestas neuroendocrinas a la clonidina</li> <li>- Aumento de NE en plasma sanguíneo</li> <li>- Alteración en la densidad y capacidad de respuesta de α<sub>2</sub>AR y β-AR</li> <li>- Efecto antidepressivo de agentes cuyos efectos bioquímicos incluyen aumento de NE</li> <li>- Reducción de gradiente de concentración de metabolitos de NE en la sangre</li> </ul> <p><b>Sistema dopaminérgico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción de HVA en FCE</li> <li>- Efecto antidepressivo de agentes cuyos efectos bioquímicos incluyen aumento de DA</li> <li>- Efecto depresógeno de AMPT y reserpina en individuos susceptibles</li> <li>- Reducción de gradiente de concentración de metabolitos de DA en la sangre</li> <li>- Depresión en la enfermedad de Parkinson</li> <li>- Anhedonia; rol de DA en los circuitos de motivación y recompensa</li> </ul>	<p><b>Sistema colinérgico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Efecto depresógeno de medicamentos colinérgicos</li> <li>- Aumento en la sensibilidad colinérgica</li> <li>- Anormalidades en EEG durante el sueño (comunes en trastornos depresivos)</li> <li>- Efecto antipsicótico de medicamentos colinérgicos</li> </ul> <p><b>Sistema glutamatérgico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- El estrés aumenta la actividad glutamatérgica</li> <li>- El litio facilita la recaptura de Glu</li> <li>- La lamotrigina, la cual tiene un efecto antidepressivo, disminuye la liberación de Glu</li> <li>- La Ketamina tiene efectos antidepressivos</li> <li>- La administración crónica de antidepressivos reduce la expresión de la subunidad del receptor NMDA</li> </ul> <p><b>Sistema GABAérgico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción de GABA en FCE</li> <li>- Reducción de GABA en Orb Cx</li> <li>- El litio, VPA ± antidepressivos podrían incrementar la señalización de GABA</li> </ul> <p><b>FLC y eje HHA</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hipercolesterolemia y resistencia a la retroalimentación inhibitoria</li> <li>- Hipertrofia hipofisaria y adrenal</li> <li>- Incremento de FLC en FCE y reducción de receptores de FLC en cerebros postmortem</li> <li>- Efectos depresógenos/ansiógenos de agonistas a FLC en modelos preclínicos</li> <li>- Los tratamientos antidepressivos normalizan la hipercolesterolemia</li> </ul> <p><b>Neurofisiología</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción de FSC y metabolismo en las partes dorso medial y dorso anterior lateral de PFC</li> <li>- Elevación de FSC y metabolismo en Orb Cx y ínsula anterior</li> <li>- Elevación de FSC y metabolismo en la amígdala</li> <li>- FSC y metabolismo anormal en las partes subgenual y pregenual del giro cingulado anterior y en el giro cingulado posterior</li> </ul>
--	---

FCE, fluido cerebroespinal; 5-HIAA, 5-hydroxyindole acetic acid (el principal metabolito de la serotonina); IMI, imipramina; 5-HT, 5-hydroxytryptamine (serotonina); Trp, triptófano, NE, noradrenalina, MHPG, 3-methoxy 4-hydroxyphenylglycol (principal metabolito de NE); DA, dopamina; EEG, electroencefalograma HVA, ácido homovanílico (principal metabolito de DA); AR, receptor adrenérgico; AMPT, a-methyl-para-tyrosine (inhibidor de la biosíntesis de la catecolamina); Glu, glutamato; NMDA, N-methyl-D-aspartate; VPA, valproato; FLC, factor de liberación de corticotropina; PFC, corteza prefrontal; FSC, flujo sanguíneo cerebral; Orb Cx, corteza orbitofrontal. Modificado de Manji, Drevets & Charney (2001).

semanas o meses después de ingesta de manera crónica. Podemos entonces sospechar que, aunque en efecto las variaciones monoaminérgicas en la hendidura intersináptica juegan un papel importante, las alteraciones en la concentración de estos neurotransmisores son consecuencia de anomalías en estructuras o sistemas con un rol más influyente en la patología (Manji, Moore, Rajkowska, & Chen, 2000).

Existe un gran número de modelos farmacológicos, aparte de la hipótesis de las monoaminas, que ayudan a explicar la patofisiología de la depresión, involucrando distintos sistemas y mecanismos, por ejemplo, el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HPA) (Jackson, 1998; Joffe, 2010) los receptores glutamatérgicos (Jiménez-Sánchez et al., 2016; Zhou et al., 2014), los receptores imidazólicos (Halaris & Piletz, 2001), neurotrofinas (Sandler, 2001) y fosfolípidos (Nemets, Fux, Levine, & Belmaker, 2001).

### **3.1.1 El sistema límbico**

Actualmente es aceptado de manera general que la depresión no es el resultado del malfuncionamiento de una estructura cerebral específica o de un sistema de neurotransmisión. En su lugar puede ser conceptualizada como un desorden multidimensional que afecta a distintos sistemas, en diferentes niveles, pero que de alguna manera están funcionalmente integrados (Kendler, Thornton, & Gardner, 2001). Uno de estos sistemas, al cual se le ha asociado con esta enfermedad es el sistema límbico, pues distintos estudios han reportado que una desregulación de la conectividad prefrontal y límbica es esencial en el desarrollo del fenotipo depresivo (Connolly et al., 2013; Lu et al., 2012).

Durante las décadas de 1930 y 1940 distintas observaciones sugerían la existencia un sistema de estructuras cerebrales responsable de las emociones y de la expresión emocional, a este sistema se le llamó “sistema límbico” (Price & Drevets, 2010). En un principio el término límbico fue usado para referirse al borde cortical que rodea el tronco del encéfalo, años después se le llamó lóbulo límbico a las formaciones olfatorias comunes en todos los mamíferos (bulbo, pedúnculo olfatorio, estría olfatoria y lóbulo piriforme). Con el paso del tiempo a distintas estructuras corticales se les ha considerado como parte de este sistema, tales como el giro del cíngulo, corteza orbitofrontal e hipocampo, y estructuras con las cuales tienen conexiones como los cuerpos mamilares, el área septal, núcleo accumbens y el complejo amigdalino (Catani, Dell’Acqua, & Thiebaut de Schotten, 2013; Rolls, 2015).

A mediados del siglo XX el sistema límbico se comenzó a describir como un circuito neural que une a las acciones, la percepción y la emoción. Según el circuito propuesto, el hipocampo conecta por medio del fornix a los cuerpos mamilares, mismos que conectan mediante el tracto mamilotálámico al núcleo anterior del tálamo y de este modo de regreso a la corteza del cíngulo. El sistema límbico está encargado de la elaboración emocional y, a través de su interacción con el hipotálamo, está involucrado en la expresión emocional (MacLean, 1949). En las últimas décadas se ha mostrado que el hipocampo está más relacionado con el procesamiento de la memoria, y la amígdala más relacionada con las emociones (Zola-Morgan, Squire, Alvarez-Royo, & Clower, 1991).

Es por su función de regular las emociones, la búsqueda de recompensa y las funciones ejecutivas, el sistema límbico se ha convertido en uno de los principales blancos en el estudio de la depresión. La implicación de este sistema en dicha patología se ha visto reforzada al observar los efectos de la depresión en las estructuras del sistema límbico, como una reducción de materia blanca y gris en la corteza prefrontal (Soares & Mann, 1997), disminución en el volumen de la cola y la cabeza del hipocampo (Malykhin, Carter, Seres, & Coupland, 2010; Sheline, Wang, Gado, Csernansky, & Vannier, 1996) y empequeñecimiento de la amígdala (Sheline, Gado, & Price, 1998). Así como la reversión de algunos de estos cambios con el uso de antidepresivos (Malykhin et al., 2010). Distintos estudios sugieren que estas modificaciones estructurales son ocasionadas por una disminución de la densidad glial (Malykhin et al., 2010; Rajkowska et al., 1999).

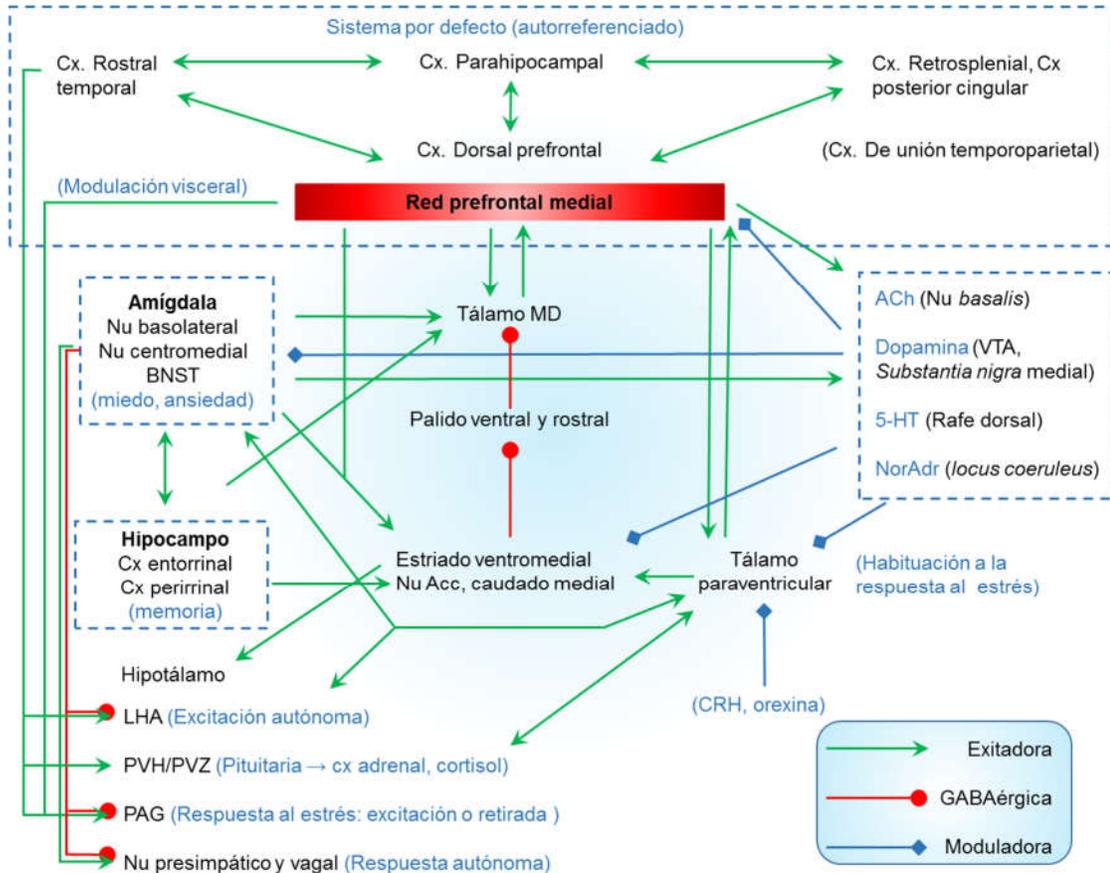
### **3.1.2 La corteza prefrontal ventromedial**

En la búsqueda de las posibles deficiencias del sistema límbico que podrían estar implicadas en la depresión, se ha observado que la interacción de éste con estructuras corticales es de vital importancia, puesto que, así como estructuras subcorticales como la amígdala, el cuerpo estriado ventral y el hipotálamo, las áreas de la corteza límbica crean un conjunto funcional dinámico encargado de la integración y accesibilidad de la información en el cerebro. Entonces en función de propiedades estructurales y funcionales las cortezas que forman parte del sistema límbico contribuyen a crear una experiencia consciente unificada por medio del flujo de información a través de redes cerebrales intrínsecas al sistema límbico (Chanes & Barrett, 2015).

La corteza prefrontal (PFC, *prefrontal cortex*, por sus siglas en inglés) tiene una relación recíproca con las cortezas parietal y temporal, involucradas en el procesamiento de la información visual, auditiva y somatosensorial y con las estructuras subcorticales del sistema límbico, en particular el hipotálamo (Nauta, 1972) (Figura 1). De esta forma la PFC está involucrada en un gran número de circuitos corticales y subcorticales que trabajan de manera paralela y favorecen a las funciones sensoriomotoras, cognitivas, emocionales, conductuales y viscerales (Barbas, 1995).

Las conexiones corticales de la amígdala, y otras áreas límbicas, se dirigen principalmente a las cortezas prefrontales orbital y medial (OMPFC). La OMPFC es un área compleja que contiene regiones granulares y agranulares, donde han sido identificadas al menos 23 distintas subdivisiones (Carmichael & Price, 1994; Öngür, Ferry, & Price, 2003).

Las proyecciones anatómicas de la amígdala y la corteza prefrontal ventomedial (vmPFC) al hipotálamo, la sustancia gris periacueductal, el *locus coeruleus*, el rafé y núcleos del tronco encefálico relacionados con las funciones autónomas, juegan un papel importante en la organización de las respuestas endocrinas, autónomas y conductuales a los estresores y los estímulos emocionales (Figura 1) (LeDoux, 2003; Öngür et al, 2003). En ratas, la estimulación de la amígdala inhibe la actividad del conjunto neuronal en la vmPFC, y la estimulación de la vmPFC a la amígdala excita las células GABAérgicas intraamigdaloides que inhiben la actividad neuronal en el núcleo central de la amígdala (Likhtik et al, 2005). Las ratas expuestas a estímulos condicionados por el miedo muestran una actividad



**Figura 1. Circuitos anatómicos que involucran la red prefrontal medial y la amígdala.** Las supuestas proyecciones excitatorias glutamatérgicas se muestran en verde, las proyecciones GABAérgicas se muestran en naranja y las proyecciones moduladoras en azul. En el modelo propuesto aquí, la disfunción en la amígdala y / o la red prefrontal medial da como resultado una desregulación de la transmisión a lo largo de un circuito cerebral que comprende desde la corteza hasta el tronco encefálico, produciendo las manifestaciones emocionales, cognitivas, endocrinas, autonómicas y neuroquímicas de depresión. Las proyecciones eferentes paralelas y convergentes de la amígdala y la red prefrontal medial hasta el hipotálamo, La sustancia gris periacueductal (PAG), el núcleo basal, el *locus coeruleus*, el rafe dorsal y el núcleo vagal medular organizan las respuestas neuroendocrina, autonómica, neurotransmisora y de comportamiento a los estresores y los estímulos emocionales. Finalmente, la red prefrontal medial es un nodo central en el "sistema canónico" cortical que parece soportar funciones autorreferenciales como el estado de ánimo. Otras abreviaturas: 5-HT: serotonina; ACh: acetilcolina; BNST: núcleo del lecho de la estría terminal; Cort.: corticosteroide; CRH: hormona liberadora de corticotropina; Cx: corteza; NorAdr: noradrenalina; PVN: núcleo paraventricular del hipotálamo; PVZ: zona periventricular del hipotálamo; STGr: giro temporal superior rostral; VTA: área tegmental ventral. Modificado de Price y Drevets (2010).

neuronal vmPFC reducida, cuya magnitud se correlaciona inversamente con el aumento correspondiente en la actividad de la amígdala y el comportamiento de miedo (García et al, 1999). Por el contrario, las lesiones del vmPFC mejoran las respuestas conductuales, simpáticas y endocrinas a estresores o estímulos condicionados por el miedo en ratas (Sullivan y Gratton, 1999). Dichas relaciones recíprocas entre la red prefrontal medial y la amígdala pueden estar relacionadas con las observaciones que en la depresión la gravedad de la misma se correlaciona positivamente con la actividad de la amígdala, pero negativamente con la actividad en las OMPFC (Drevets et al, 2004). Por lo tanto, el incremento en la actividad observado dentro de algunas áreas de la red prefrontal medial durante los episodios depresivos puede reflejar una respuesta compensatoria que modula los síntomas depresivos. Los cambios neuropatológicos evidentes en el vmPFC y la amígdala en los trastornos del estado de ánimo pueden afectar su papel en la modulación de las respuestas viscerales a los estresores y los estímulos emocionales (Price y Drevets; 2010).

### **3.2 Modelos animales de depresión**

Si bien los síntomas como la culpa, el suicidio y el sentirse triste suelen ser características puramente humanas, otros aspectos del síndrome depresivo se han replicado en animales de laboratorio y, en varios casos, se han mejorado con el tratamiento antidepresivo. Estas incluyen medidas de indefensión, anhedonia, comportamiento de desesperanza y otros cambios neurovegetativos, como alteraciones en los patrones de sueño y apetito. La mayoría, si no todos, los modelos animales de depresión pretenden analizar cuantitativamente alguna

forma de derrota o desesperanza inducida experimentalmente, aunque este aspecto del comportamiento de los mamíferos es probablemente fisiológico (es decir, adaptativo) más que patológico.

Los modelos de depresión actuales a menudo se evalúan cumpliendo tres criterios principales (a) validez de apariencia (el requisito de un grado razonable de homología sintomática), (b) validez de constructo (o etiológica) (el requisito de factores causales similares) y (c) Validez farmacológica (que requiere la reversión de los síntomas depresivos por los antidepresivos disponibles) (Krishnan & Nestler, 2011). Sin embargo, teniendo en cuenta que los trastornos depresivos en los seres humanos son muy diversos, es poco probable que se cree un modelo válido que reproduzca patogénicamente y clínicamente la depresión en roedores en el futuro. No obstante, la variedad de modelos existentes (Ver tabla 2) proporciona un estudio detallado de los mecanismos neurobiológicos individuales y patrones de desarrollo de los estados depresivos en los seres humanos. Otra ventaja de la diversidad de modelos es la perspectiva amplia para estudiar los mecanismos de acción y predicciones de perfiles farmacológicos de fármacos potenciales para el tratamiento de la depresión (Grigor'yan & Gulyaeva, 2017).

Tabla 2 Modelos de depresión		
Modelos	Pruebas e intervenciones	Evaluación conductual
Desesperanza	Nado forzado	Inmovilidad
	Suspensión de la cola	Inmovilidad
Anhedonia	Prueba de aversión al sabor	Incremento de consumo de estímulo aversivo
	Consumo de solución de sacarosa.	Disminución
Estrés prenatal	Envenenamiento: lipopolisacárido, virus de la influenza, etc.	Incremento de ansiedad
Estrés postnatal	Separación materna	Disminución del consumo de solución de sacarosa, aumento de la ansiedad, miedo
	Aislamiento social	
	Estrés crónico impredecible leve	Disminución de la preferencia por la solución de sacarosa.
	Derrota social	Disminución de la preferencia por la solución de sacarosa.
Genéticos	Ratones knockout del transportador de serotonina	Disminución de la duración de la inmovilidad.
	Ratones knockout del transportador de noradrenalina	Disminución de la duración de la inmovilidad.
	Ratones knockout totales o parciales de receptores 5-HT <sub>1A</sub> y 5-HT <sub>1B</sub>	Disminución de la duración de la inmovilidad.
	Ratones knockout del transportador de dopamina	Disminución de la duración de la inmovilidad, mayor consumo de solución de sacarosa
	Ratones heterocigotos con knockout total o parcial del transportador del gen de BDNF	Disminución de la duración de la inmovilidad, mayor consumo de solución de sacarosa
	Ratones knockout de la aquaporina-4	Disminución de la duración de la inmovilidad en machos
Modificado de Grigor'yan y Gulyaeva (2015)		

### **3.2.1 Prueba de nado forzado**

La prueba de nado forzado (FST, *Forced swimming test*, por sus siglas en inglés) se introdujo originalmente en 1977 por Porsolt, la prueba se basa en la observación de que cuando los roedores se enfrentan a una situación aversiva inevitable pueden elegir diferentes estrategias de afrontamiento que pueden calificarse como activas o pasivas. Las estrategias activas (escalamiento y nado) predominan en la exposición inicial a la prueba, pero generalmente se reemplazan con el tiempo con la aparición de una estrategia pasiva (flotación o inmovilidad). La observación clave que llevó la FST a un uso generalizado fue el descubrimiento de que los antidepresivos efectivos en humanos tenían la capacidad de aumentar la cantidad de estrategias activas adoptadas por el animal en la FST. Por lo tanto, la principal ventaja de la FST ha sido su validez predictiva: la efectividad de un fármaco para promover el afrontamiento activo en el FST tiene el potencial de predecir su eficacia como antidepresivo.

La descripción original del procedimiento FST de rata contiene dos fases (Porsolt et al., 1977), con ratas que inicialmente recibieron una exposición previa de nado forzado de 15 minutos, precediendo una sesión de prueba de cinco minutos a las 24 horas después del entrenamiento.

El término de inmovilidad se usa para definir la flotación del animal cuando está en el agua, sin esfuerzos de natación, solo exhibiendo los movimientos mínimos necesarios para mantener la cabeza sobre el agua. La inmovilidad se utiliza como el índice predominante del nivel de desesperanza y, por lo tanto, el incremento en

la duración de la inmovilidad o las cuentas de actividad inmóvil son las características de la conducta de tipo depresiva.

Además, se ha demostrado que los antidepresivos serotoninérgicos y noradrenérgicos influyen diferencialmente en el comportamiento de natación y escalamiento en este modelo. Se ha reportado que el sistema serotoninérgico media el movimiento de natación, mientras que los antidepresivos noradrenérgicos mejoran el comportamiento de escalada (movimientos activos con las patas delanteras dentro y fuera del agua, generalmente contra la pared del cilindro) (Detke et al., 1995)

Debido a su simplicidad, este paradigma se considera el más adecuado para la detección de compuestos antidepresivos en roedores. Por otro lado, el FST también se puede usar después de la exposición al estrés crónico (Strekalova et al., 2004), como un método de seguimiento para medir el desarrollo de síntomas depresivos en una enfermedad crónica basada en el estrés y para evaluar rápidamente la actividad farmacológica (Luo et al., 2008). Esta característica promueve el uso del FST no solo como modelo *per se* para predecir la actividad de los antidepresivos, sino también como una evaluación de los síntomas depresivos que han sido inducidos por otros paradigmas de depresión.

### **3.3 Tratamientos para la depresión**

El tratamiento para la depresión por excelencia consiste en una intervención conjunta entre algún tipo de psicoterapia y fármacos antidepresivos, sin embargo, estas no son las únicas herramientas de las que disponen los especialistas en el

tratamiento de los trastornos depresivos. A lo largo de los años han sido distintas las estrategias empleadas en el tratamiento de la depresión y aunque algunas de ellas actualmente se encuentran en desuso siguen siendo una alternativa para aquellos pacientes en los que el tratamiento convencional no surge efecto. Estos tratamientos alternativos incluyen terapia por electrochoque, cirugía resectiva, estimulación cerebral profunda, estimulación magnética transcraneal, entre otras.

Desde que el efecto antidepresivo de la Iproniazida fue observado en pacientes con tuberculosis hace aproximadamente 50 años, los fármacos han sido la primera opción en el tratamiento de la depresión. Los primeros fármacos antidepresivos que tenían como mecanismo de acción inhibir la monoaminoxidasa, reduciendo la descomposición enzimática de la serotonina y la noradrenalina, aun se siguen utilizando con gran éxito (Berton & Nestler, 2006). Posteriormente, se desarrollaron los antidepresivos tricíclicos, medicamentos más específicos que actúan inhibiendo los transportadores de la membrana plasmática para la serotonina y/o la noradrenalina. Estos medicamentos proporcionaron una base para el desarrollo de nuevas clases de antidepresivos, incluidos los ISRS (inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina), los IRN (inhibidores de la recaptación de noradrenalina) y los IRSN (inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina). Se pretende encontrar o diseñar agonistas o antagonistas más selectivos de los receptores de serotonina o noradrenalina, que podrían producir acciones como las de los medicamentos disponibles, pero de manera más rápida y segura. Tales esfuerzos aún están en marcha, con algunas pistas prometedoras. Sin embargo, a pesar de los miles de millones de dólares en

investigación, tanto en el mundo académico como en la industria, este enfoque aún no ha logrado traer ningún medicamento fundamentalmente nuevo al mercado (Willner, Scheel-Krüger, & Belzung, 2013). Al mismo tiempo, ha habido una importante acumulación de conocimiento sobre sistemas no monoaminérgicos que podrían contribuir a la fisiopatología de la depresión, como los sistemas de neurotransmisión glutamatérgica y colinérgica o con otro tipo de neuromoduladores como el factor de liberación de corticotropina (FLC), la sustancia P, el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), la fosfodiesterasa, entre otros (Berton & Nestler, 2006).

Aunque los tratamientos actuales para la depresión son generalmente seguros y efectivos, están lejos de ser ideales. Los antidepresivos contemporáneos no solo actúan sobre los síntomas depresivos sino también sobre la ansiedad, la alimentación, el control de los impulsos y el trastorno de estrés post-traumático. Además de la necesidad de administrar los medicamentos durante semanas o meses para ver el beneficio clínico, los efectos secundarios tienen la gravedad suficiente para causar la interrupción del tratamiento en el 19% de los pacientes (Hindmarch, 2002). Además, la falta de eficacia en pacientes deprimidos significó que el 30% de los casos no respondieron a la medicación. Por lo tanto, se puede observar que casi el 50% de los pacientes tratados no muestran una respuesta clínica importante (Nestler et al., 2002). Por lo tanto, todavía hay una gran necesidad de desarrollar nuevos antidepresivos no solo para comprender la fisiopatología de la depresión, sino también para hacer un diagnóstico más preciso de la gama de síntomas presentados y de la naturaleza exacta de la enfermedad.

## **4 Epilepsia**

La epilepsia es un trastorno cerebral que se caracteriza por una predisposición permanente a generar crisis epilépticas y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales de esta condición. La epilepsia existe en un paciente presentado al menos una crisis, siempre y cuando esto vaya acompañado de la presencia de una alteración duradera en el cerebro que aumente la probabilidad de futuros ataques (Fisher et al., 2005). Esta afección neurológica es padecida por aproximadamente 50 millones de personas en el mundo (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2013), de las cuales 5 millones viven en Latinoamérica y el Caribe (Organización Panamericana de la Salud, Liga internacional contra la Epilepsia, 2013). En México la prevalencia de pacientes con epilepsia es de 10 a 20 por cada 1000, lo cual sugiere que en nuestro país existen por lo menos un millón de personas con alguna forma de epilepsia, de las cuales sólo el 50% de las personas que la padecen cuentan con servicios de salud (López-Meraz, González-Trujano, Neri-Bazán, Hong y Rocha, 2005).

En términos electrofisiológicos podemos definir a la epilepsia como una alteración paroxística del sistema nervioso central, recurrente y autosostenida, que se caracteriza por la interacción de redes neuronales con disparos excesivos de potenciales de acción anormalmente sincronizados, cuyas manifestaciones clínicas y eléctricas varían en función del tipo de circuitos implicados, del patrón de propagación y del grado de sincronización (Gloor, Quesney, & Zumstein, 1977). Las crisis epilépticas son clasificadas por medio de un substrato dicotómico que indica el modo de inicio de las crisis, esto es focal y generalizada.

Las crisis focales son aquellas que se originan en redes neuronales delimitadas a un solo hemisferio, ya sea discretamente localizadas o ampliamente distribuidas. Las crisis focales pueden originarse en estructuras subcorticales y para cada tipo de crisis el inicio ictal es consistente entre una y otra crisis con un patrón de propagación preferencial que puede envolver al hemisferio contralateral. Aunque hay casos en los que pueden verse involucrados más de dos redes neuronales y más de un tipo de crisis, cada tipo de crisis tiene individualmente su tipo de inicio (Berg et al., 2010).

Las crisis generalizadas son originadas en cierto punto y rápidamente se extienden comprometiendo redes bilaterales. Dichas redes pueden incluir estructuras corticales o subcorticales pero sin incluir a toda la corteza, y a diferencia de las crisis focales, en las crisis generalizadas la localización y lateralización del inicio de las crisis individuales no es consistente de una crisis a otra (Berg et al., 2010).

En un número substancial de epilepsias, la etiología es aún desconocida (Badawy, Harvey & Macdonell, 2009). Es bien sabido que múltiples factores en combinación contribuyen a la predisposición epiléptica y es por ello que han surgido numerosos modelos animales en donde pueden ser reproducidos (Loscher, 1997) y parcialmente responder sobre algunos mecanismos que la subyacen.

#### **4.1 Kindling eléctrico**

Dentro de los modelos animales experimentales de epilepsia por estimulación eléctrica, se encuentra el kindling eléctrico que es reconocido como el modelo que

mejor asemeja la progresión de las crisis en humanos (Wada y Osawa, 1976). Este modelo se ha establecido en varias especies animales como ranas, lagartijas, ratones, ratas, conejos, perros, macacos Rhesus, papiones de Guinea y gatos (Morimoto et al., 2004).

El kindling, término inicialmente acuñado por Goddard (Goddard et al., 1969) para describir que la estimulación eléctrica repetida de baja intensidad, aplicada en áreas específicas del cerebro, en especial el sistema límbico, induce el desarrollo progresivo de alteraciones conductuales y electroencefalográficas. Inicialmente, sólo se inducen postdescargas focales de corta duración limitadas al sitio de estimulación; con la repetición de los estímulos eléctricos, las postdescargas son más prolongadas, se propagan a estructuras contralaterales y desencadenan crisis generalizadas tónico-clónicas (Fernández-Guardiola et al., 1995).

Los cambios conductuales que se observan durante el desarrollo del kindling pueden ser caracterizados en distintos estadios descritos por Racine (1972). Estos cambios conductuales son acompañados por un aumento en la duración, amplitud y frecuencia de espigas en la post descargas focales (Racine, 1972).

## **4.2 Tratamientos de la Epilepsia**

En la actualidad no es posible curar o prevenir la epilepsia. Los anticonvulsivos utilizados para tratar a los pacientes que padecen esta enfermedad, estos, como su nombre sugiere, únicamente suprimen las convulsiones sin tratar a la enfermedad en si. Aunado a esto se sabe que del 20 al 30% de los pacientes epilépticos son refractarios a tratamiento farmacológico (Regesta y Tanganelli,

1999). La intratabilidad de la epilepsia se asocia a crisis persistentes a pesar de una monoterapia o a la terapia que combina fármacos antiepilépticos, la presencia de crisis repetidas durante periodos largos aún con tratamiento de dosis altas y con la incapacidad del sujeto para realizar su vida normal.

El tratamiento para la epilepsia refractaria a fármacos antiepilépticos es, en la mayoría de los casos, la resección del área epileptógena y regiones circundantes. Otras terapias alternativas incluyen a la dieta cetógena, la estimulación cerebral profunda, la estimulación transcraneal y la estimulación eléctrica del nervio vago (VNS, *vagus nerve stimulation* por sus siglas en inglés; DeGiorgio et al., 2000).

## **5 Estimulación del nervio vago**

A mediados del siglo XX surgieron primeros trabajos que mostraron los efectos antiepileptogénicos de la VNS (Zanchetti et al., 1952), en los que se reportaba que la VNS tenía efectos inhibitorios en un modelo experimental de epilepsia en la corteza frontal del gato. Estudios posteriores mostraron que la VNS podía ser efectiva para prevenir las crisis convulsivas en pacientes farmacológicamente intratables (Penry y Dean, 1990; Zabara, 1992). Además, se demostró que la VNS retarda la generalización de las crisis epilépticas, aunado a la disminución en su duración y frecuencia (Fernández-Guardiola et al., 1999)

Además de su efectividad en el tratamiento de la epilepsia la VNS podría tener efectos benéficos en el tratamiento de otras patologías, como la depresión. Los efectos de la VNS sobre la depresión fueron inicialmente reportados en pacientes

con epilepsia refractaria, los cuales reportaron una mejoría en su estado de ánimo (Rush et al. 2000). Posteriormente se reportó que al estimular eléctricamente el nervio vago durante tres meses, los síntomas depresivos desaparecían, estos resultados fueron independientes del efecto antiepiléptico de la VNS (Scherrmann et al., 2001). En otro estudio se encontró que pacientes con depresión mayor que recibieron VNS durante 12 meses respondieron benéficamente al tratamiento (Conway et al. 2013).

En resumen, según la evidencia disponible en pacientes con epilepsia crónica, parece que: (a) la comorbilidad con trastornos psiquiátricos es común, (b) los trastornos del estado de ánimo son el trastorno más frecuente y (c) la depresión mayor es el más frecuente de los trastornos del estado de ánimo y ocurre con mayor frecuencia en pacientes con epilepsia crónica que en la población general. Dados estos hallazgos y la mayor morbilidad y mortalidad que se sabe que están asociadas con la depresión mayor, este estudio se centrará en esta condición.

Los mecanismos patogénicos comunes del desarrollo de la depresión y la epilepsia se han discutido en los últimos años. Estos incluyen los siguientes: alteraciones del funcionamiento del sistema hipotálamo-hipofisario-adrenal, disminuciones en las actividades de serotonina, noradrenalina, dopamina, glutamato, GABA, cambios estructurales - atrofia - de las áreas temporales y frontales, cambios en el hipocampo, el tálamo, los ganglios basales, la corteza entorrinal y la corteza temporal lateral, así como las áreas prefrontal, orbitofrontal y medial-frontal de la corteza y la amígdala, finalmente alteraciones funcionales de los lóbulos temporales y frontales.

La epilepsia con foco en el lóbulo frontal permanece como un trastorno poco estudiado. Por lo que resulta relevante conocer los efectos que tienen las crisis epilépticas cuyo foco se encuentra en el lóbulo frontal en las conductas depresivas y el posible tratamiento de ambas patologías con un mismo método como lo es la VNS.

## **6 Justificación**

La depresión representa una de las principales causas de discapacidad en el mundo y una de las comorbilidades más comunes en los pacientes con epilepsia. Afectando de manera sustancial la calidad de vida de los pacientes, asociándose con un peor control de las crisis, problemas emocionales, una mayor probabilidad de suicidio, mayor gasto económico para el paciente y el sistema de salud, además de que existe una mayor probabilidad de desarrollar farmacorresistencia.

La depresión y la epilepsia comparten varios sustratos neurofisiológicos que pueden variar en función del foco y el grado de generalización de la epilepsia. Una de las áreas cerebrales en la cual se producen alteraciones en ambos padecimientos es la vmPFC, sin embargo, se desconoce como la presencia de ambas patologías de manera simultánea afecte esta zona cerebral.

La VNS y la estimulación cerebral profunda, han mostrado resultados benéficos en ambos desórdenes neuropsiquiátricos, sin embargo, debido a que se sabe poco acerca de las alteraciones emocionales que un foco epiléptico en los lóbulos frontales llega a generar y cómo estas alteraciones a su vez afectan el desarrollo epileptógeno. Es importante conocer el impacto de estimular el nervio vago en el

contexto de la interacción de ambas patologías en pacientes que presentan comorbilidad.

Dadas las implicaciones éticas que constituyen la experimentación en pacientes humanos, los modelos animales representan una herramienta fundamental para investigar las causas y los mecanismos de una patología ante la necesidad de avanzar en el entendimiento de la misma. Ya que nos permiten aislar los componentes de las patologías para su estudio

## **7 Objetivos**

### **7.1 Objetivo general**

El objetivo de esta tesis fue determinar el efecto del kindling eléctrico en la vmPFC y la estimulación del nervio vago en las conductas tipo depresivas en ratas con libertad de movimiento.

### **7.2 Objetivos específicos**

Inducir el desarrollo de crisis convulsivas mediante el protocolo kindling en la vmPFC

Evaluar el efecto del protocolo kindling y la VNS en la conducta de desesperanza aprendida en la prueba de nado forzado

Evaluar el efecto del protocolo kindling y la VNS en la conducta de anhedonia en la prueba de aversión al sabor

## 8 Métodos

### 8.1 Grupos experimentales

Para poder abordar los objetivos de este trabajo se utilizarón ratas macho de la cepa Wistar dentro del rango de peso corporal de 250g a 300g. Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en 4 grupos experimentales:

1. **Control.** Los animales de este grupo no fueron sometidos al procedimiento quirúrgico ni al protocolo kindling.
2. **Kindling.** Los animales de este grupo fueron sometidos al procedimiento quirúrgico (electrodos en PrL, BLA y nervio vago) y al protocolo kindling
3. **Sham.** Los animales de este grupo fueron sometidos al procedimiento quirúrgico (electrodos en PrL, BLA y nervio vago), pero no al protocolo kindling
4. **VNS.** Los animales de este grupo solo fueron implantados con el electrodo del nervio vago y fueron sometidos al protocolo de estimulación eléctrica de nervio vago

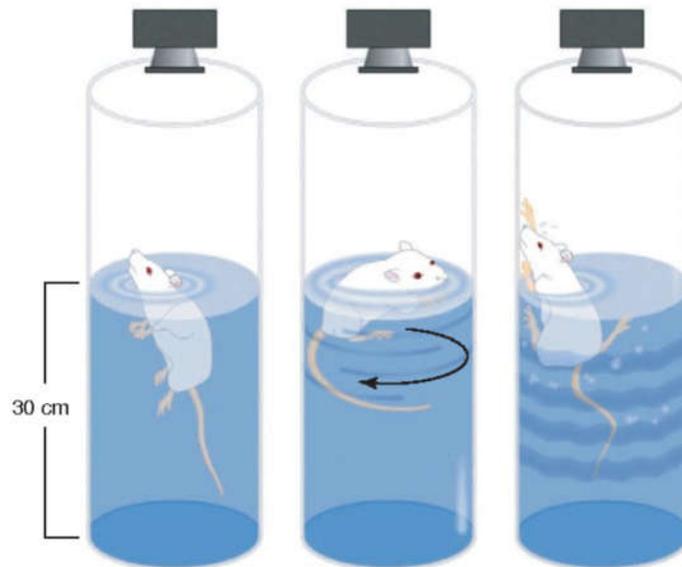
### 8.2 Procedimiento quirúrgico:

La cirugía se llevó a cabo bajo anestesia (Ketamina 100 mg/kg y Xilacina 50 mg/kg) intramuscular. Los animales fueron implantados con un electrodo bipolar diseñado en el laboratorio, el cual fue colocado alrededor del nervio vago izquierdo. Posteriormente se implantaron estereotáxicamente electrodos tripolares de acero inoxidable en la corteza PrL (AP +3.2, L  $\pm$ 0.5, DV 4.0), y en el núcleo basolateral de la amígdala (BLA) (AP -4.9, L  $\pm$ 5.5, DV 8.8) (Paxinos y Watson, 2004). Se implantaron epiduralmente tornillos en la corteza parietal para hacer

registro electroencefalográfico (EEG). Los electrodos fueron soldados a dos miniconectores y fijados al cráneo con acrílico dental. Posterior a la cirugía, los animales fueron puestos en cajas individuales (50x27x30 cm) a una temperatura de 23-25 grados y 12:12-h de ciclo luz-oscuridad. Todos los animales tuvieron siete días de reposo antes de comenzar con el protocolo de experimentación.

### **8.3 Prueba de nado forzado**

Después del periodo de recuperación los animales fueron sometidos a la preprueba de nado forzado, esta consistió en colocar a las ratas en un cilindro de vidrio (46 cm altura x 20 cm de diámetro) con agua a una profundidad de 30 cm, a temperatura ambiente (Figura 2). Esta sesión tuvo una duración de 15 minutos y 12 días después, en el caso del grupo control, o después del protocolo kindling, se realizó la segunda sesión con una duración de 5 minutos. Para la calificación de la prueba se cuantificó en periodos de 5 segundos la conducta de nado, escalamiento e inmovilidad durante la segunda sesión.



**Figura 2. Prueba de nado forzado.** Representación de la prueba de nado forzado y las tres conductas evaluadas (inmovilidad, nado y escalamiento respectivamente de izquierda a derecha).

#### 8.4 Búsqueda de umbral

Se determinó el umbral de estimulación eléctrica para la PrL con un estimulador S88 (Grass instruments, MA, USA) y una unidad de aislamiento PSIU15 (Grass instruments, MA, USA). La PrL fue estimulada (5 s, pulso 1 ms, 60 Hz) iniciando con una intensidad de 100  $\mu$ A, aumentándola gradualmente 100  $\mu$ A cada 5 minutos, hasta observar un guiño ipsilateral al sitio de estimulación o contracciones faciales, acompañadas de una breve post-descarga (2-5 segundos) en el electroencefalograma, con esta intensidad se llevó a cabo la estimulación diaria.

## **8.5 Kindling eléctrico**

Diariamente se llevaron a cabo 5 estimulaciones en intervalos de 1 hora y se registró la actividad EEG durante 5 minutos de línea base, la estimulación del kindling con su respectiva post-descarga y 5 minutos de registro posteriores a las crisis. La estimulación amigdalina concluyó cuando el animal presentó 5 CCTC o llegar a los 60 estímulos.

La actividad eléctrica cerebral se registró con amplificadores Grass 7PK511. La señal fue amplificada y se filtró con un pasabanda de 3 a 60 Hz, digitalizado a 300 muestreos por segundo con un sistema convertidor analógico-digital ADQCH8 que incluye un software para el análisis de señales (ambos desarrollados en el laboratorio, Valdés-Cruz et al., 2008).

Para el análisis conductual se utilizó el esquema de clasificación propuesto por Racine (1978): Estadio I, contracción facial ipsilateral; Estadio II, contracción facial bilateral, movimientos verticales de cabeza (*nodding*); Estadio III, mioclonias de las extremidades; Estadio IV, posición de canguro; Estadio V, crisis convulsivas generalizadas tónico clónicas.

## **8.6 Estimulación eléctrica del nervio vago**

El umbral del nervio vago fue establecido por la aparición de respuestas vegetativa la cual fue definida como alteración del ritmo respiratorio y contracciones abdominales. La VNS se realizó diez veces cada día con una duración de un minuto (30 Hz, 0.5 ms de duración) e intervalos de cinco minutos, con ayuda de un estimulador S88 (Grass, Massachusetts)

### **8.7 Prueba de aversión al sabor**

Un día después de la sesión de la FST, se inició la prueba de aversión al sabor. Los animales fueron privados de agua por 16 h, posteriormente se colocaron en las jaulas botellas con leche endulzada (Lechera, Nestle, México MR) diluida, 4 ml de leche por 12 ml de agua, las botellas fueron pesadas antes y después de realizar la prueba con el propósito de cuantificar el consumo. Este procedimiento se repitió durante 5 días, en el quinto día a la solución de leche endulzada se le añadió 0.01% de quinina diluida (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), con el fin de evaluar la aversión

### **8.8 Prueba de campo abierto**

Los animales fueron habituados al cuarto oscuro durante 15 minutos. En una arena de campo abierto con piso cuadriculado (90×90×30 cm), se colocó por separado a cada animal, se permitió que explorara libremente durante 30 minutos y la conducta fue videograbada. Fueron cuantificados el número de sectores cruzados por el animal durante la prueba y el número de entradas al cuadrante central. Se considera un cruce cuando el animal atraviesa totalmente la línea de separación entre dos sectores.

### **8.9 Análisis Estadístico**

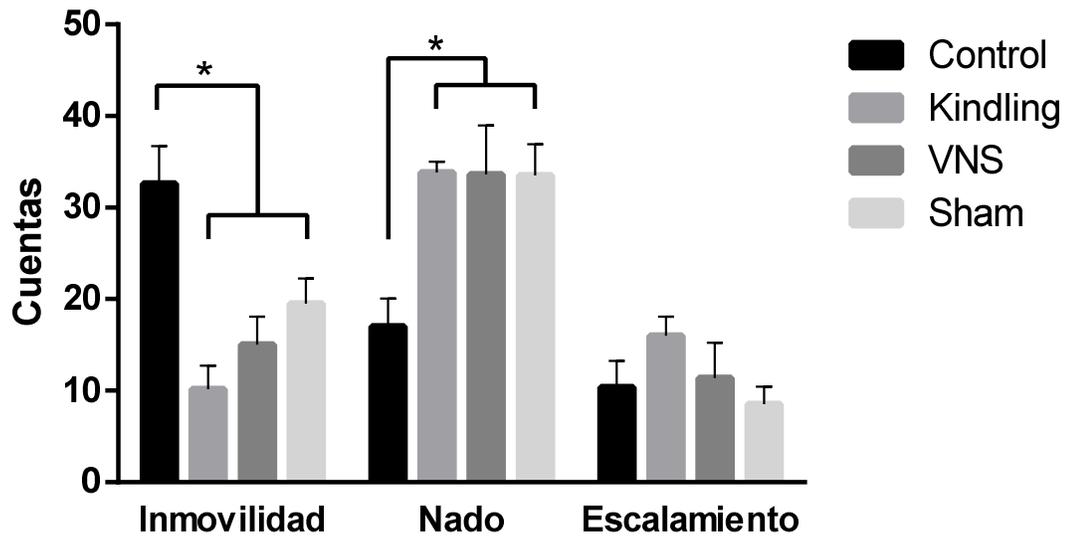
Las pruebas estadísticas utilizadas para el análisis conductual en la prueba de nado forzado y el campo abierto fueron ANOVA de dos vías, seguida de una

prueba post hoc de Tukey. Mientras que para el análisis de la prueba de aversión se llevó a cabo una prueba ANOVA de medidas repetidas, seguida de la prueba post hoc de Bonferroni. Para el análisis de la coherencia electroencefalográfica se realizó una T de student para muestras relacionadas.

## 9 Resultados

### 9.1 Evaluación de conducta de desesperanza aprendida

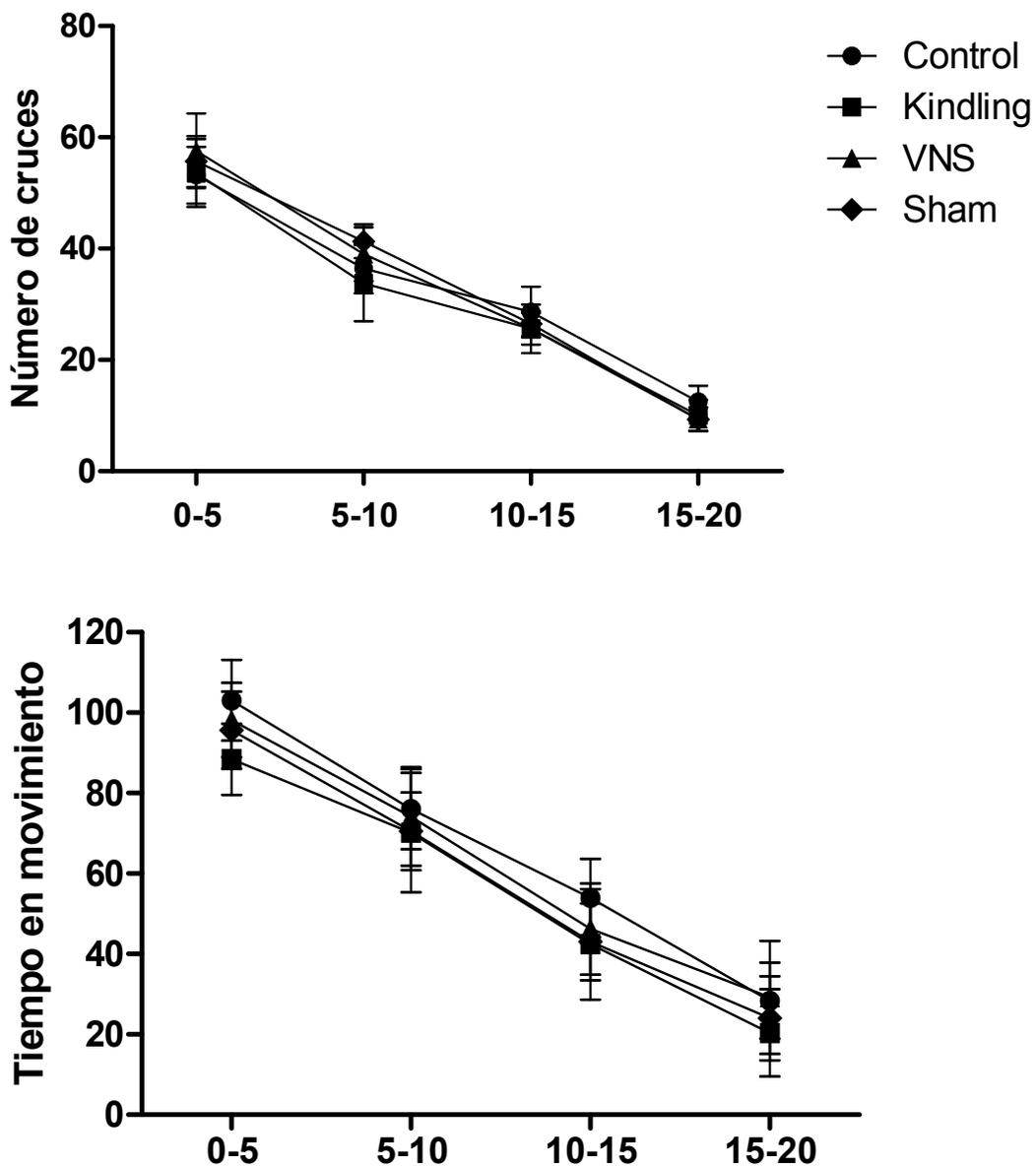
Se realizó la prueba de nado forzado como modelo de depresión y con el fin de evaluar la desesperanza aprendida en los animales. Las tres condiciones experimentales produjeron un efecto antidepresivo, reflejado como una disminución significativa en la conducta de inmovilidad, respecto al grupo control (Figura 3).



**Figura 3. Conductas tipo depresivas en prueba de nado forzado.** Los valores corresponden a los promedios  $\pm$  SEM de las conductas evaluadas en bins de 5 s en la prueba de nado forzado (Control  $n = 10$ ; Kindling y VNS  $n = 5$ ; Sham  $n = 6$ ). El análisis estadístico se realizó con la prueba ANOVA de 2 vías y prueba post hoc de Tukey (\*  $P < 0.05$ ).

## **9.2 Evaluación de la capacidad motriz de los animales**

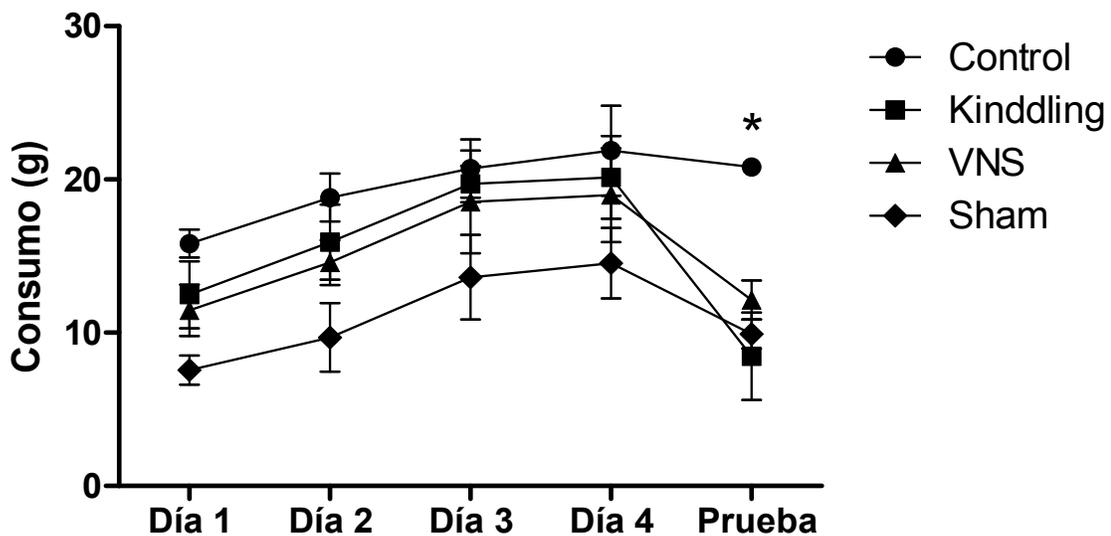
Con el fin de descartar la posibilidad de que las diferencias observadas en la prueba de nado forzado fueran ocasionadas por diferencias en la capacidad motriz de los animales se realizó la prueba de campo abierto. El análisis de los indicadores de motricidad (número de cuadrantes cruzados y tiempo en movimiento) mostró que no existen diferencias entre los grupos (Figura 4).



**Figura 4. Conducta motora.** Los valores corresponden a los promedios  $\pm$  SEM del número de cruces (A) y el tiempo en movimiento (B), evaluados en bins de 5 m en la prueba de campo abierto (Control n = 10; Kindling y VNS n = 5; Sham n = 6). El análisis estadístico se realizó con la prueba ANOVA de 2 vías y prueba post hoc de Tukey.

### 9.3 Prueba de aversión al sabor

Para evaluar comportamientos tipo anhedónicos se realizó la prueba de aversión al sabor. Ante la exposición al estímulo palatable durante los días de habituación no hubo diferencias en el consumo entre los grupos, sin embargo, el día de la prueba hubo diferencias significativas en el consumo de los animales de los grupos kindling, VNS y sham con respecto al grupo control (Figura 5).

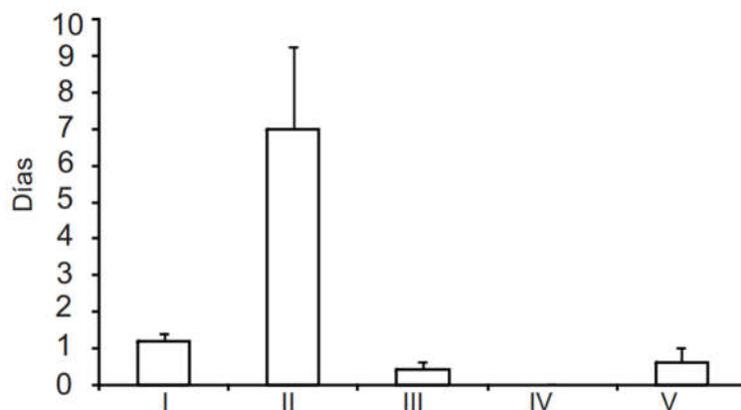


**Figura 5. Evaluación de conducta tipo anhedónica.** Los valores corresponden a los promedios  $\pm$  SEM del consumo expresado en gramos, (Control  $n = 10$ ; Kindling y VNS  $n = 5$ ; Sham  $n = 6$ ). El análisis estadístico se realizó con la prueba ANOVA de 2 vías de medidas repetidas y prueba post hoc de Bonferroni (\*  $P < 0.05$ )

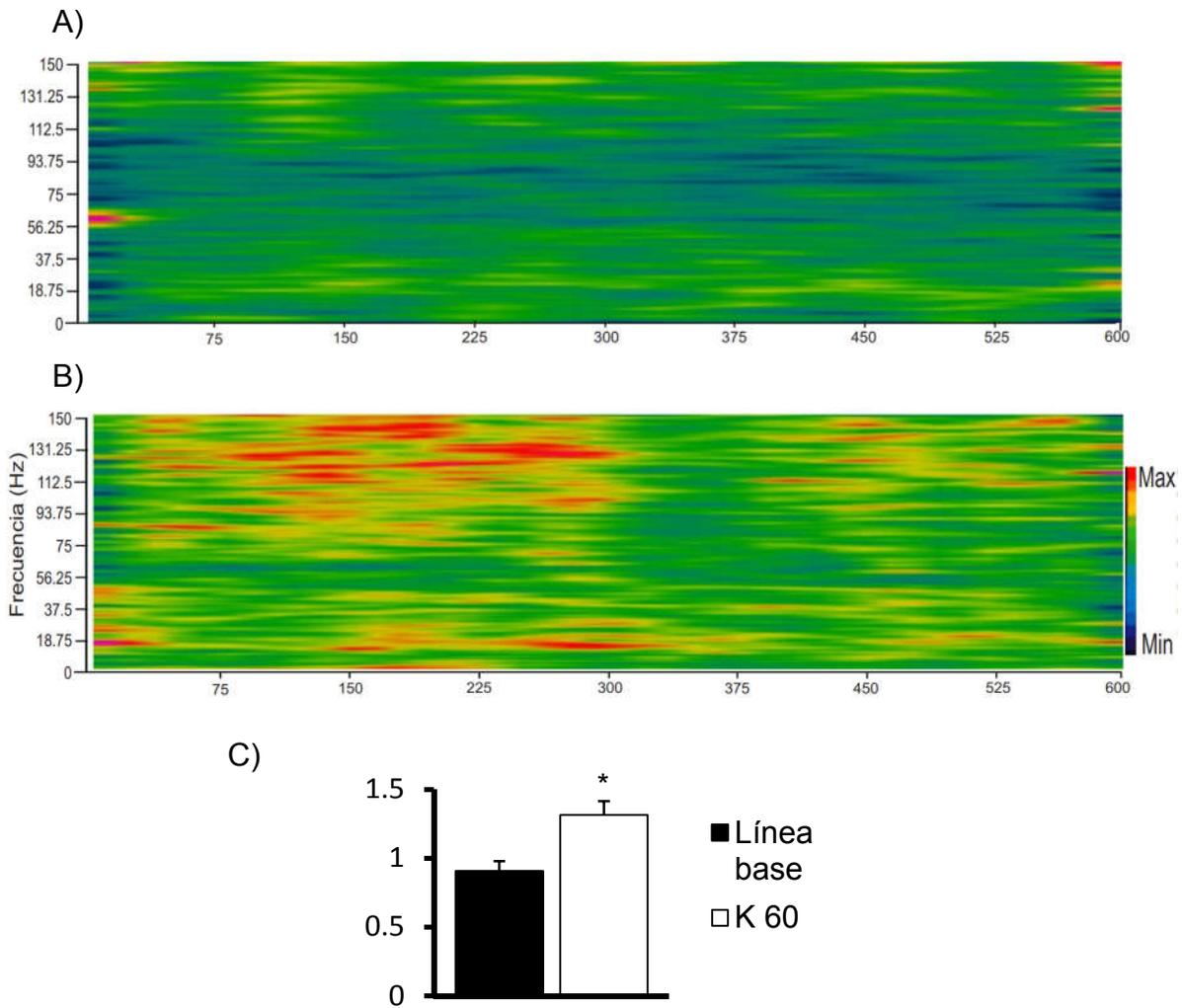
### 9.4 Desarrollo del Kindling en vmPFC

El umbral medio para inducir la primer postdescarga, registrado ipsi y contralateralmente en la vmPFC y  $733 \pm 55$  ( $N = 5$ , de los cuales 3 requirieron una

intensidad de estímulo máxima de 800 A). La duración media de la primera postdescarga fue de  $5.8 \pm 0.6$  s para estimulación con PFC. En la mayoría de los casos, la postdescarga durante las etapas tempranas del kindling no estuvo acompañado de hiperactividad conductual, y la amplitud de postdescarga fue baja. Sin embargo, después de un número medio de 15 estímulos kindling, la postdescarga fue seguido de manera confiable por un aumento en la locomoción que duró al menos 5 minutos y ocasionalmente se observaba conductas de tipo sexuales (erección del pene seguida de auto-estimulación). Con respecto a los estadios de la escale establecida por Racine sólo 2 de las 5 ratas presentaron estadio V, crisis convulsivas generalizadas tónico clónicas, mientras que mostraron una permanencia prolongada en el estadio II, contracción facial bilateral, movimientos verticales de cabeza (*nodding*). De manera interesante ningún animal presentó las conductas típicas del estadio IV (Figura 6)



**Figura 6. Permanencia en estadios durante el protocolo kindling.** Conteo de los estadios presentados por los animales durante el protocolo de kindling



**Figura 7. Análisis de coherencia entre vmPFC y amígdala.** Espectrograma del análisis de coherencia entre PFC y la amígdala de un animal representativo, el día de la búsqueda de umbral (A) y después de la última estimulación kindling (B). En C se muestran los valores normalizados del ancho de banda de las frecuencias 65 -100Hz (\*P<0.05)

### 9.5 Análisis de coherencia de vmPFC y amígdala

La coherencia del EEG puede ser interpretada como el grado de asociación funcional entre dos señales, dicho análisis de señales es útil para la investigación de la comorbilidad epilepsia-depresión debido a que una crisis convulsiva puede

ser definida como una elevada coherencia electroencefalográfica entre estructuras.

Para el grupo Kindling analizaron registros de línea base el día de la búsqueda de umbral y después del último estímulo kindling, con el fin de evaluar si el progreso de la epileptogénesis cambiaba la coherencia del EEG. Todos los registros se realizaron con la rata en estado de vigilia y con libertad de movimiento. La comparación de señales fue realizada entre: PrL y BLA.

El análisis de coherencia entre la vmPFC y la amígdala fue baja durante el registro basal antes de una post-descarga (Figura 7 A), lo que sugiere la independencia de la actividad eléctrica entre vmPFC y la amígdala. De manera interesante, fue posible apreciar un aumento transitorio en la coherencia vmPFC-amígdala después de la post-descarga del último estímulo kindling (Figura 7 B), y se encontró un aumento de coherencia significativo 1 y 2 minutos después de la post-descarga en la actividad de ondas gama (65–100 Hz).

## 10 Discusión

El objetivo de esta tesis fue determinar el efecto del kindling eléctrico en la PrL y la estimulación del nervio vago en las conductas tipo depresivas en ratas con libertad de movimiento. En los animales que fueron sometidos al protocolo kindling fue posible apreciar un efecto tipo antidepresivo en la prueba de nado forzado, comparable al efecto antidepresivo ocasionado por la VNS, aunque el grupo kindling presenta una tendencia a presentar un efecto más marcado.

Es bien sabido que la VNS influye en el *locus coeruleus* (LC) a través de las fibras aferentes vagales. Estas fibras tienen sus cuerpos celulares en el ganglio nodoso y se proyectan predominantemente al núcleo del tracto solitario. A su vez, las neuronas del núcleo del tracto solitario proyectan al LC y apoyan los aumentos en la velocidad de disparo de la LC inducidos por VNS

El LC y su neurotransmisor noradrenalina están involucrados de manera convincente en el tratamiento de la depresión (Harro y Oreland, 2001). Por un lado, se ha demostrado que la estimulación eléctrica directa del LC produce un efecto antidepresivo en la FST (Danysz et al., 1986). Por otro lado, los estudios de lesiones han demostrado que se requiere un LC intacto para observar un efecto terapéutico de los fármacos antidepresivos (Danysz et al., 1986; Grimonprez et al., 2015).

Sin embargo, el aumento de noradrenalina tal vez no sea suficiente para explicar los efectos antidepresivos de la VNS. Si bien la activación del sistema noradrenérgico ya está presente después de 1 h de VNS (Dorr y Debonnel, 2006;

Manta et al.,2013), se ha demostrado que la VNS produce un efecto en las neuronas serotoninérgicas y dopaminérgicas que solo aparece después de la estimulación crónica (2 semanas de VNS). De hecho, se demostró que la serotonina está implicada en el efecto antidepresivo de la VNS crónica (Furmaga et al., 2011). Manta y col. (2013) mostraron que el efecto de VNS sobre la activación neuronal serotoninérgica es indirecta y mediada por las neuronas noradrenérgicas del LC a través de la activación mejorada de los receptores adrenérgicos tipo  $\alpha_1$  ubicados en los cuerpos celulares serotoninérgicos del núcleo del rafe dorsal.

Por otra parte, un efecto antidepresivo similar fue observado en los animales del grupo sham, a los cuales se les realizó el procedimiento quirúrgico, pero no fueron estimulados eléctricamente. De forma consistente, los animales de los grupos kindling y sham no presentaron conductas tipo anhedónicas en la prueba de aversión al sabor.

Estos resultados sugieren que la lesión producida por el procedimiento quirúrgico es suficiente para producir un efecto antidepresivo. Esto concuerda con reportes previos de que el implante de electrodos en vmPFC produce un efecto tipo antidepresivo en la prueba de nado (Perez-Caballero et al., 2013). Una posible explicación sobre los mecanismos mediante los cuales el efecto de inserción del electrodo produce efectos antidepresivos es la siguiente: en general, el SNC responde a lesiones mediante la activación de mecanismos de reparación a corto plazo, por lo que es probable que estos mecanismos puedan estar implicados en los efectos antidepresivos observados. El implante de electrodos intracraneal

representa una agresión obvia al SNC que se refleja en la activación glial transitoria y local; esta activación de la gliosis puede conducir a la expresión de mediadores inflamatorios que inducen el incremento de p11, lo que aumenta la cantidad de receptores 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>4</sub> en la membrana celular. Este incremento en la expresión de estos receptores influye en la eficacia de la neurotransmisión serotoninérgica y finalmente resulta en los efectos antidepresivos observados (Perez-Caballero et al., 2013).

Por otra parte, la estimulación kindling en la vmPFC tuvo umbrales de post-descarga altos y presencia de convulsiones de estadio V de manera inconsistente, lo cual concuerda con reportes previos de kindling en la misma área cerebral (Ma y Leung, 2010). El análisis de coherencia entre la vmPFC y la amígdala mostró que la estimulación kindling provocó un incremento en la coherencia en ondas gama (65–100 Hz). Sugiriendo que la estimulación kindling provoca una correlación en la actividad gama entre la vmPFC y la amígdala, indicando un aumento en la conectividad funcional entre las dos estructuras. Estos resultados son similares a lo reportado por Ma y Leung (2010), que tras la estimulación kindling en la vmPFC se observa un incremento en la coherencia en ondas gamas entre la vmPFC y el núcleo accumbens.

Este aumento en la correlación en la actividad entre la vmPFC y la amígdala podría contribuir al efecto antidepresivo observado en el grupo kindling. Estudios en modelos animales y en humanos han mostrado que hay una conectividad funcional deficiente entre estas dos estructuras durante tareas emocionales, en sujetos expuestos a situaciones de estrés y con síntomas tipo depresivos

(Sánchez et al., 2001; Gee et al., 2013). Por lo que el aumento en la conectividad ocasionado por el protocolo kindling podría ser responsable de que el efecto antidepresivo de mayor magnitud fuera el observado en los animales del grupo kindling.

## 11 Bibliografia

American Psychiatric Association. (2013). DSM 5. American Journal of Psychiatry.

<https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596.744053>

Barbas, H. (1995). Anatomic Basis of Cognitive-Emotional Interactions in the Primate Prefrontal Cortex. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 19(3), 499–510.

Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., Van Emde Boas, W., et al. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>

Berton, O., & Nestler, E. J. (2006). New approaches to antidepressant drug discovery: Beyond monoamines. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(2), 137–151. <https://doi.org/10.1038/nrn1846>

Blazer, D. G., Kessler, R. C., McGonagle, K. A., & Swartz, M. S. (1994). The prevalence and distribution of major depression in a national community sample: The National Comorbidity Survey. *American Journal of Psychiatry*, 151, 979–986.

Bylund, D. B., & Reed, A. L. (2007). Childhood and adolescent depression: Why do children and adults respond differently to antidepressant drugs? *Neurochemistry International*, 51, 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.06.025>

- Carmichael, S. T., y Price, J. L. (1994). Architectonic subdivision of the orbital and medial prefrontal cortex in the macaque monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 346(3), 366–402. <https://doi.org/10.1002/cne.903460305>
- Catani, M., Dell'Acqua, F., y Thiebaut de Schotten, M. (2013). A revised limbic system model for memory, emotion and behaviour. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(8), 1724–1737. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.07.001>
- Chanes, L., y Barrett, L. F. (2015). Redefining the Role of Limbic Areas in Cortical Processing. *Trends in Cognitive Sciences*, xx(2), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2015.11.005>
- Charney, D. S., Buxbaum, J. D., Sklar, P., & Nestler, E. J. (2013). Neurobiology of mental illness (4th ed.). In *Neurobiology of mental illness (4th ed)* (p. xx, 1222). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1093/med/9780199934959.001.0001>
- Connolly, C. G., Wu, J., Ho, T. C., Hoeft, F., Wolkowitz, O., Eisendrath, S., et al. (2013). Resting-state functional connectivity of subgenual anterior cingulate cortex in depressed adolescents. *Biological Psychiatry*, 74(12), 898–907. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.036>
- Conway, C. R., Chibnall, J. T., Gebara, M. A., Price, J. L., Snyder, A. Z., Mintun, M. A., et al. (2013). Association of cerebral metabolic activity changes with vagus nerve stimulation antidepressant response in treatment-resistant depression. *Brain stimulation*, 6(5), 788–797. doi:10.1016/j.brs.2012.11.006

- Danysz W, Kostowski W, Kozak W, Hauptmann M. (1986) On the role of noradrenergic neurotransmission in the action of desipramine and amitriptyline in animal models of depression. *Pol J Pharmacol Pharm*, 38:285-98.
- Detke, M.J., Rickels, M., Lucki, I., (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology* 121, 66–72
- Dorr AE, Debonnel G. (2006) Effect of vagus nerve stimulation on serotonergic and noradrenergic transmission. *J Pharmacol Exp Ther*, 318:890e8.
- Drevets WC, Gadde K, Krishnan KRR. (2004) Neuroimaging studies of mood disorder. In: Charney DS, Nestler EJ (eds). *Neurobiology of Mental Illness* 2nd edn. Oxford University Press: New York; 461–480
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., y Fernández-Mas, R. (1995). Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23-h recording), and brain mapping study. *Epilepsy Research*, 22(2), 127–136. doi: 10.1016/0920-1211(95)00037-2
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M., Martínez, D., y Fernández-Mas, R. (1999). Vagus Nerve Prolonged Stimulation in Cats: Effects on Epileptogenesis (Amygdala Electrical Kindling): Behavioral and Electrographic Changes. *Epilepsia*, 40(7), 822–829.
- Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., y Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the

International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x>

Garcia R, Vouimba RM, Baudry M, Thompson RF. (1999) The amygdala modulates prefrontal cortex activity relative to conditioned fear. *Nature*, 402:294–296.

Gee D.G., Gabard-Durnam L.J., Flannery J., et al. (2013). Early developmental emergence of human amygdala-prefrontal connectivity after maternal deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(39), 15638–43

Gloor, P., Quesney, L. F., Zumstein, H. (1977). Pathophysiology of generalized penicillin epilepsy in the cat: the role of cortical and subcortical structures. II. Topical application of penicillin to the cerebral cortex and to subcortical structures. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 43(1), 79–94. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(77\)90198-5](https://doi.org/10.1016/0013-4694(77)90198-5)

Goddard G. V., McIntyre D.C., Lee C.K. (1996) A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology*, 25: 295-330

Grigor'yan, A. G., & Gulyaeva, N. V. (2017). Modeling Depression in Animals: Behavior as the Basis for the Methodology, Assessment Criteria, and Classification. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 47(2), 204–216. <https://doi.org/10.1007/s11055-016-0386-7>

- Grimonprez, A., Raedt, R., Portelli, J., Dauwe, I., Larsen, L. E., Bouckaert, C., ... Vonck, K. (2015). The antidepressant-like effect of vagus nerve stimulation is mediated through the locus coeruleus. *Journal of Psychiatric Research*, 68, 1–7. doi:10.1016/j.jpsychires.2015.05.002
- Halaris, A., & Piletz, J. E. (2001). Imidazoline receptors: possible involvement in the pathophysiology and treatment of depression. *Human Psychopharmacology*, 16(1), 65–69. <https://doi.org/10.1002/hup.185>
- Harro J, Orelund L. (2001) Depression as a spreading adjustment disorder of mono-aminergic neurons: a case for primary implication of the locus coeruleus. *BrainRes Brain Res Rev*, 38: 79-128.
- Hindmarch, I. (2002). Beyond the monoamine hypothesis: mechanisms, molecules and methods<sup>1</sup>. *European Psychiatry*, 17(October), 294–299. [https://doi.org/10.1016/S0924-9338\(02\)00653-3](https://doi.org/10.1016/S0924-9338(02)00653-3)
- Herman, B., Seidenberg, M., y Bell, B. (2000). Psychiatric Comorbidity in Chronic Epilepsy: Identification, Consequences, and Treatment of Major Depression. *Epilepsia*, 41, S31- S41.
- Jackson, I. M. D. (1998). The Thyroid Axis and Depression. *Thyroid*, 8(10), 951–956. <https://doi.org/10.1089/thy.1998.8.951>
- Jiménez-Sánchez, L., Castañé, A., Pérez-Caballero, L., Grifoll-Escoda, M., López-Gil, X., Campa, L., ... Adell, A. (2016). Activation of AMPA Receptors Mediates the Antidepressant Action of Deep Brain Stimulation of the Infralimbic

- Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, 26(6), 2778–2789.  
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhv133>
- Joffe, R. T. (2010). Hypothalamic-pituitary-thyroid axis. In *Hormones, Brain and Behavior Online* (pp. 2341–2356). <https://doi.org/10.1016/B978-008088783-8.00074-7>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2000). *Principles of Neural Science. Neurology* (Vol. 4). <https://doi.org/10.1036/0838577016>
- Kanner, A. M. (2006). Depression and epilepsy: A new perspective on two closely related disorders, *Epilepsy Curr.*, 6, No. 5, 141–146.
- Kendler, K. S., Thornton, L. M., & Gardner, C. O. (2001). Genetic risk, number of previous depressive episodes, and stressful life events in predicting onset of major depression. *The American Journal of Psychiatry*, 158(4), 582–586.  
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.4.582>
- Kessler, R. C. (1997). The Effects of Stressful Life Events on Depression. *Annual Review of Psychology*, 48, 191–214.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.psych.48.1.191>
- Krishnan, V., & Nestler, E. J. (2011). Animal models of depression: Molecular perspectives. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*.  
[https://doi.org/10.1007/7854\\_2010\\_108](https://doi.org/10.1007/7854_2010_108)
- Ledoux J. (2003) The emotional brain fear and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol*, 23: 727–738.

- Likhtik E, Pelletier JG, Paz R, Pare D. (2005) Prefrontal control of the amygdala. *J Neurosci.* 25: 7429–7437.
- López-Meraz, M. L., González-Trujano, M. E., Neri-Bazán, L., Hong, E., & Rocha, L. L. (2005). 5-HT1A receptor agonists modify epileptic seizures in three experimental models in rats. *Neuropharmacology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.03.020>
- López-Muñoz, F., Assion, H. J., Alamo, C., Garcia-Garcia, P., & Fangamann, P. (2008). La introducción clínica de la iproniazida y la imipramina: medio siglo de terapéutica antidepresiva. *Anales de Psiquiatría*, 24, 56–70.
- Lu, Q., Li, H., Luo, G., Wang, Y., Tang, H., Han, L., & Yao, Z. (2012). Impaired prefrontal-amygdala effective connectivity is responsible for the dysfunction of emotion process in major depressive disorder: A dynamic causal modeling study on MEG. *Neuroscience Letters*, 523(2), 125–130.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.06.058>
- Luo, D., An, S., Zhang, X., 2008. Involvement of hippocampal serotonin and neuropeptide Y in depression induced by chronic unpredicted mild stress. *Brain Res. Bull.* 77, 8–12.
- MacLean, P. D. (1949). Psychosomatic disease and the visceral brain; recent developments bearing on the Papez theory of emotion. *Psychosomatic Medicine*, 11(6), 338–353. <https://doi.org/10.1097/00006842-194911000-00003>

- Malykhin, N. V., Carter, R., Seres, P., & Coupland, N. J. (2010). Structural changes in the hippocampus in major depressive disorder: Contributions of disease and treatment. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 35(5), 337–343. <https://doi.org/10.1503/jpn.100002>
- Manji, H. K., Drevets, W. C., & Charney, D. S. (2001). The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine*, 7(5), 541–547. <https://doi.org/10.1038/87865>
- Manji, H. K., Moore, G. J., Rajkowska, G., & Chen, G. (2000). Neuroplasticity and cellular resilience in mood disorders. *Molecular Psychiatry*, 5(6), 578–593. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000811>
- Manta S, El Mansari M, Debonnel G, Blier P. (2013) Electrophysiological and neurochemical effects of long-term vagus nerve stimulation on the rat monoaminergic systems. *Int J Neuropsychopharmacol*, 16:459e70.
- Nauta, W. J. (1972). Neural associations of the frontal cortex. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 32(2), 125–140.
- Nemets, B., Fux, M., Levine, J., & Belmaker, R. H. (2001). Phospholipid metabolism and depression: The possible roles of phospholipase A2 and coenzyme A-independent transacylase. *Human Psychopharmacology*, 16(1), 45–52. <https://doi.org/10.1002/hup.182>
- Nestler, E. J., Barrot, M., DiLeone, R. J., Eisch, A. J., Gold, S. J., & Monteggia, L. M. (2002). Neurobiology of depression. *Neuron*, 34(1), 13–25. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00653-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00653-0)

- Öngür, D., Ferry, A. T., & Price, J. L. (2003). Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 460(3), 425–449. <https://doi.org/10.1002/cne.10609>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2013). Plan de acción sobre salud mental 2013-2020. Biblioteca de la OMS. [https://doi.org/978 92 4 350602 9](https://doi.org/978_92_4_350602_9)
- Organizacion Panamericana de la Salud, Liga internacional contra la Epilepsia, O. I. por la E. (2013). Informe sobre la Epilepsia en América Latina y el Caribe. Organizacion Panamericana de la Salud.
- Penry, J. K., & Dean, J. C. (1990). Prevention of Intractable Partial Seizures by Intermittent Vagal Stimulation in Humans: Preliminary Results. *Epilepsia*, 31(s2). doi: 10.1111/j.1528-1157.1990.tb05848.x
- Perez-Caballero, L., Pérez-Egea, R., Romero-Grimaldi, C., Puigdemont, D., Molet, J., Caso, J. R., Mico, J. A., Pérez, V., Leza, J. C. y Berrocoso, E. (2013). Early responses to deep brain stimulation in depression are modulated by anti-inflammatory drugs. *Mol Psychiatry*, 19(5):607-14. doi: 10.1038/mp.2013.63
- Polaino-Lorente, A., & Domènech, E. (1993). Prevalence of childhood depression: results of the first study in Spain. *Journal Of Child Psychology And Psychiatry, And Allied Disciplines*, 34(6), 1007–1017. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cmedm&AN=8408365&site=ehost-live>

Porsolt, R.D., Le Pichon, M., Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732.

- Price, J. L., y Drevets, W. C. (2010). Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(1), 192–216. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.104>
- Rajkowska, G., Miguel-Hidalgo, J. J., Wei, J., Dilley, G., Pittman, S. D., Meltzer, H. Y., ... Stockmeier, C. A. (1999). Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biological Psychiatry*, 45(9), 1085–1098. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00041-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00041-4)
- Regesta, G., y Tanganelli, P. (1999). Clinical aspects and biological bases of drug-resistant epilepsies. *Epilepsy Research*, 34(2-3), 109–122. doi:10.1016/s0920-1211(98)00106-5
- Rolls, E. T. (2015). Limbic systems for emotion and for memory, but no single limbic system. *Cortex*, 62, 119–157. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2013.12.005>
- Rush, A., George, M. S., Sackeim, H. A., Marangell, L. B., Husain, M. M., Giller, C., et al. (2000). Vagus nerve stimulation (VNS) for treatment-resistant depressions: a multicenter study. *Biological Psychiatry*, 47(4), 276–286. doi:10.1016/s0006-3223(99)00304-2
- Sánchez, M.M., Ladd C.O., Plotsky P.M. (2001). Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. *Development and Psychopathology*, 13, 419–49

- Sandler, M. (2001). Neurotrophins: possible role in anxiety and affective disorders. *Human Psychopharmacology*, 16(1), 50–54.
- Sheline, Y. I., Gado, M. H., & Price, J. L. (1998). Amygdala core nuclei volumes are decreased in recurrent major depression. *NeuroReport*, 9(9), 2023–2028. <https://doi.org/10.1097/00001756-199806220-00021>
- Sheline, Y. I., Wang, P. W., Gado, M. H., Csernansky, J. G., & Vannier, M. W. (1996). Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(9), 3908–3913. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.9.3908>
- Scherrmann, J., Hoppe, C., Kral, T., Schramm, J., & Elger, C. E. (2001). Vagus Nerve Stimulation. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 18(5), 408–414. doi: 10.1097/00004691-200109000-00004
- Soares, J. C., & Mann, J. J. (1997). The anatomy of mood disorders—review of structural neuroimaging studies. *Biological Psychiatry*, 41(1), 86–106. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(96\)00006-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(96)00006-6)
- Strekalova, T., et al. (2004). Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology* 29, 2007–2017.
- Sullivan RM, Gratton A. (1999) Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. *J Neurosci*, 19:2834–2840.

- Willner, P., Scheel-Krüger, J., & Belzung, C. (2013). The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2331–2371. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.12.007>
- Zabara, J. (1992). Inhibition of Experimental Seizures in Canines by Repetitive Vagal Stimulation. *Epilepsia*, 33(6), 1005–1012. doi: 10.1111/j.1528-1157.1992.tb01751.x
- Zanchetti, A., Wang, S., & Moruzzi, G. (1952). The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 4(3), 357–361. doi: 10.1016/0013-4694(52)90064-3
- Zhou, W., Wang, N., Yang, C., Li, X. M., Zhou, Z. Q., & Yang, J. J. (2014). Ketamine-induced antidepressant effects are associated with AMPA receptors-mediated upregulation of mTOR and BDNF in rat hippocampus and prefrontal cortex. *European Psychiatry*, 29(7), 419–423. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2013.10.005>
- Zola-Morgan, S., Squire, L. R., Alvarez-Royo, P., & Clower, R. P. (1991). Independence of memory functions and emotional behavior: separate contributions of the hippocampal formation and the amygdala. *Hippocampus*, 1(2), 207–220. <https://doi.org/10.1002/hipo.450010208>