



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

**RESPUESTA DE LOS ASTROCITOS ANTE LA
ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL
REPETITIVA DE ALTA FRECUENCIA EN UN MODELO DE
DEPRESIÓN**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

PRESENTA:

Rodrigo Acosta Luna

DIRECTORA: Dra. Sylvia Leticia Verdugo Díaz

REVISOR: Dr. Octavio García González

SINODAL: Dr. Fructuoso Ayala Guerrero

SINODAL: Dra. Irma Yolanda del Río Portilla

SINODAL: Dra. Violeta Giselle López Huerta



DGAPA-PAPIIT IN220120

Ciudad Universitaria, CD.MX. Marzo, 2024.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Contenido

Resumen	10
Introducción.....	11
Antecedentes	13
Depresión.....	13
Epidemiología	15
Etiología	16
Modelos de Depresión.....	20
Modelo por Reserpina	21
Modelo de indefensión aprendida	21
Estrés crónico impredecible leve	22
Modelo de estrés de derrota social	23
Otros modelos.....	24
Estimulación Magnética Transcraneal	24
Estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr)	26
Mecanismos de acción de la EMTr	27
Células gliales.....	28
Astrocitos	28
Astrocitos y depresión	30
Astrocitos y EMTr.....	32
Justificación.....	33
Pregunta de investigación.....	33
Objetivos	34
Objetivo general.....	34
Objetivos específicos	34
Hipótesis	34

Materiales y métodos	34
Tipo de estudio	35
Sujetos.....	35
Pruebas conductuales.....	36
Nado Forzado	36
Campo Abierto	37
Laberinto elevado en forma de cruz	38
Prueba de preferencia a la sacarosa	39
Modelo de CUMS.....	41
EMTr.....	42
Inmunohistoquímica	43
Análisis de imágenes.....	44
Cuantificación de GFAP.....	44
Análisis de datos	45
Resultados.....	46
Peso corporal	46
Pruebas conductuales.....	47
Campo Abierto	47
Laberinto en Cruz elevado	49
Prueba de nado forzado	51
Prueba de preferencia a la sacarosa.....	54
Inmunohistoquímica a <i>GFAP</i>	55
Discusión	56
El modelo CUMS indujo conductas ansiosas y disminución en el crecimiento medido a través del aumento del peso corporal.....	56
Efecto del CUMS en conductas ansiosas.	57

El modelo CUMS indujo sintomatología de tipo depresiva y la EMTr logró atenuarla	58
La EMTr aumenta el número de células positivas a GFAP	60
Limitaciones	62
Conclusiones	62
Referencias.....	64

Agradecimientos

Esta sección ha sido una de las que más añoraba realizar, ya que cada una de las personas mencionadas en este apartado ha sido parte de una fracción, de un momento específico de mi formación académica y de mi vida.

Fácilmente podría extenderme, pues son innumerables las persona que me han influenciado, primero que nada, quisiera agradecer a mis padres, los motores de mi vida. A mi padre Servando, que me ha enseñado el sentido del esfuerzo, el trabajo y la responsabilidad, que ha manejado kilómetros y ha sacrificado horas de sueño para que yo pudiese cumplir una de mis metas; gracias por tus regaños, consejos y apoyo, sin duda, una de las personas que más admiro.

A mi madre Marisol, gracias por estar incondicionalmente, por corregirme, por esperarme cada noche de lo que ha durado el proceso, por instruirme y no dejar que me conformé con poco, la mujer que más amaré en toda mi vida y que nunca podré pagar ni una mínima parte de lo que me ha dado.

A mis compañeras de vida, Lucy y Liz, por ser mis confidentes, mis pilares, mis pasos a seguir. Por siempre cuidarme, por las risas y llantos que hemos pasado. Lucias gracias por tu amor incondicional, por tus cartas, consejos y compañía. Liz gracias por enseñarme a ser resiliente, por protegerme, ayudarme y apoyarme.

A mis sobrinas Camis y Emili, quienes con su sonrisa han logrado darme fuerzas, de darle color a mis días. A mi cuñado Arturo que me ha mostrado lo que las ganas de superación logran.

A mi hermano de vida, Diego mi mejor amigo, por apostar por mi desde el primer instante, por demostrar lealtad y compañía, por todas las noches en la que compartimos nuestras metas y sueños. El cual confiaba en mí cuando ni siquiera yo lo hacía.

A Ale, “Que sería de mi sino estuvieras en mi vida, que sería de mi sino estuvieras en las madrugadas mientras lloro o te cuento que tal va todo, que sería de mi sin escuchar tu voz compartiendo tus inquietudes y pasiones, estoy seguro de que la existencia misma sería más difícil sin una amistad como la tuya”.

A Breen, a quien admiro por la gran persona que es, que me ha brindado comprensión, cariño, respeto, mi sol en momentos oscuros, gracias por haberte cruzado en mi vida, gracias por la tolerancia, por los apapachos, por alentarme, por los abrazos y es que eres quien da vida a cada una de mis células.

*Quando me miras
mis ojos son llaves,
el muro tiene secretos,
mi temor palabras, poemas.
Sólo tú haces de mi memoria
una viajera fascinada,
un fuego incesante.*

Alejandra Pizarnik- Quien alumbra

A mis grandes amigos de CCH, a Liz, a Chinos; que los recuerdo con cariño cada día. Liz gracias por aún ser mi amiga, por los momentos que vivimos en el bachillerato, por las equivocaciones y por ser un ejemplo de madurez, de templanza. A Chinos, hermano ha pasado tiempo y te mantienes cerca, por mostrarme que uno es capaz de lo que se proponga además de enseñarme que en realidad la vida se trata de seguir tus ideales, porque eso te mantiene real, por algo eres el Rick más Rick. A ambos los quiero como no tienen idea espero seguir contando con su amistad por mucho más tiempo para poder resonar esa canción que nos hemos dedicado:

*“In many ways, still miss the good old days
Someday, someday
Yeah, it hurts to say, but I want you to stay
Sometimes, sometimes
When we was young, oh man, did we have fun?
Always, always”
The Strokes - Someday*

A mis amigos que han estado en el trayecto y han sido piezas fundamentales Darío, Jackie, Jacks, Joan, Ayari, Ismael, Montserrat, Karla, Axel, Fer, Sandy, Yass, Adrian, Skull y a Tania, por las risas y momentos compartidos.

Al laboratorio de Neuroendocrinología en especial al Dr. Iván Patraca, a la Lic. Ale Muñoz y a la Dra. Rox, por hacerme un espacio en esta familia académica, por ser amigos y colegas que me han brindado apoyo y consejo en momentos cruciales durante la realización de mi tesis.

A la familia Acosta, Elvira, Julián, Hermelinda, Carlos, Abraham por todo el apoyo que han brindado durante toda mi carrera.

Al Hip-Hop en especial a Dano y a todo el colectivo ziontifik, porque sin su música seguramente no estuviera en estas instancias, por haber sido esos salvavidas en los días más duros, por darme latidos en ritmos y aliento en rimas, ziontifik got the juice...

Al laboratorio de Bioelectromagnetismo, a la Dra. Eli, a los próximos doctores Irving, Fernando y Anna, a Gunter, Vianey, Ceci, Erica y en especial a la Dra. Leticia directora y jefa del laboratorio, por haberme brindado el espacio, recursos y asesoramiento necesario para realizar este trabajo. Además del agradecimiento de todas aquellas personas que colaboraron en el estudio en especial la Dra. Margarita. Por último, agradecer al proyecto **PAPIIT-DGAPA IN220120**, por el financiamiento para que se pudiera llevar a cabo el proyecto.

Finalmente quisiera agradecerme, solo yo sé lo duro que ha sido todo este trayecto, por las veces que me levante de la cama cuando no existían ganas de la mínima existencia, por darme la oportunidad de intentarlo, por ser tolerante, por todas las lágrimas que han sido la tinta de sueños que viajaban en camión y terminaban en horas de desvelo, en cansancio acumulado, sacrificios y deseos de superación.

Escribo todo lo que nadie se atreve a decir

Agradecido conmigo mismo por sobrevivir

Casi no duermo ya lo devuelvo al morir

Casi no vuelvo del fondo pero salí

Nico Miseria- Lázaro

Abreviaturas:

5-HT: Serotonina.

ACTH: Hormona adrenocorticotrópica.

AVP: Arginina vasopresina.

BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro.

CA1: Cuernos de Amon 1.

CA2: Cuernos de Amon 2.

CA3: Cuernos de Amon 3.

CIE-11: Clasificación internacional de enfermedades onceava edición.

CORT: Corticosterona.

CPFDL: Corteza prefrontal dorsolateral.

CRH: Hormona liberadora de corticotropina.

CUMS: Estrés crónico variable impredecible leve.

DA: Dopamina.

DG: Giro dentado.

DSM-V: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales quinta edición.

EAAT: Transportadores de aminoácidos excitadores.

EMT: Estimulación magnética transcraneal.

EMTr: Estimulación magnética transcraneal repetitiva.

EPM: Prueba de laberinto en cruz elevado.

FDA: Food and Drug Administration.

GABA: Ácido gamma aminobutírico.

GDNF: Factor neurotrófico derivado de la glía.

GFAP: Proteína ácida fibrilar glial.

Gln: Glutamina.

Glu: Glutamato.

GR: Receptores glucocorticoides.

HPA: Eje hipotálamo-pituitario suprarrenal.

cTBS: Estimulación Theta burst constante.

iTBS: Estimulación Theta burst intermitente.

LC: Locus coeruleus.

LDT: Long-term depression.

LTP: Long-term potentiation.

MAO-A: Monoamina oxidasa A.

MR: Receptores mineralocorticoides.

NA: Noradrenalina.

NF: Nado forzado.

NTS: Núcleos del tracto solitario.

OFT: Prueba de campo abierto.

PBS: Solución salina tamponada con fosfato.

PFA: Paraformaldehído.

PVN: Núcleo Paraventricular Hipotalámico.

SHAM: Falsa estimulación.

Sirt-1: Sirtuina 1.

SN: Sistema Nervioso.

SNC: Sistema nervioso central.

SNP: Sistema nervioso periférico.

TDM: Trastorno depresivo mayor.

vGluT: Transportadores vesiculares de glutamato.

Resumen

Más de 300 millones de personas en todo el mundo sufren depresión, y cerca del 33% de los pacientes con trastorno depresivo mayor (TDM) no responden a tratamientos farmacológicos convencionales. La Estimulación Magnética Transcraneal Repetitiva (EMTr) se presenta como una terapia no invasiva prometedora para la depresión resistente a otras intervenciones. Aplicando pulsos magnéticos en la corteza cerebral, la EMTr genera cambios neuronales que alivian los síntomas depresivos. Además, se ha observado que la EMTr impacta en los astrocitos, células cerebrales clave en la fisiopatología del TDM. Investigaciones recientes sugieren que la EMTr puede modular la función astrocítica y reducir la inflamación cerebral, contribuyendo así a su eficacia en el tratamiento del TDM. A lo largo del tiempo, el avance de la ciencia básica ha sido esencial para comprender trastornos mentales, siendo el TDM un desafío debido a su diversidad en etiología y síntomas. La incapacidad de replicar ciertos síntomas fundamentales, como el estado de ánimo deprimido, en animales de laboratorio ha complicado la identificación de un modelo representativo de la depresión. El modelo de Estrés Crónico Variable (CUMS) se destaca por su prolongada duración de efectos y validez de constructo, siendo utilizado para inducir síntomas depresivos, como la anhedonia. La propuesta de aplicar EMTr en este modelo busca evaluar su impacto en las conductas tipo depresivas y su efecto en la densidad de astrocitos en corteza y áreas del hipocampo.

Utilizando ratas Wistar macho adultas, se indujo sintomatología depresiva y ansiosa mediante CUMS, seguido de un protocolo de EMTr de 10 Hz aplicado durante 15 días. Las pruebas conductuales, como el nado forzado, preferencia a la sacarosa, campo abierto y laberinto en cruz elevado, se utilizaron para evaluar la sintomatología, mientras que cortes coronales de hipocampo y corteza cerebral se sometieron a inmunohistoquímica para analizar la expresión de proteína ácida fibrilar glial (GFAP), indicador de astrocitos.

Los resultados revelaron que la EMTr de 10 Hz redujo las conductas tipo depresivas, aunque no afectó en las conductas tipo ansiosas en el modelo animal de depresión inducido por CUMS. Además, se observaron cambios en la densidad de astrocitos en áreas específicas del hipocampo y no en corteza. Estos resultados sugieren que el efecto que ejerce la EMTr en los astrocitos podría contribuir con la mejora observada de las conductas tipo depresivas en este modelo animal.

Palabras clave: Trastorno Depresivo Mayor, Astro glía, Estrés Crónico, Estimulación Magnética.

Introducción

La depresión es considerada de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial, en la actualidad, se estima que afecta a más de 300 millones de personas y que es causa de gran sufrimiento ya que altera las actividades laborales, escolares y familiares de quién lo padece (Belmaker & Agam, 2008; Organización Mundial de la Salud, 2022).

Para que una persona sea diagnosticada con trastorno depresivo mayor (TDM), el personal de salud se guía a través del Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales quinta edición (DSM-V), donde se clasifica con depresión a la persona que mantenga un estado de ánimo deprimido, además de presentar una clara pérdida de interés o de placer por cosas que antes le eran placenteras, aunado a ello suele presentarse en conjunto con otros síntomas tales como: pérdida o aumento de peso, insomnio o hipersomnias, agitación o retraso psicomotor, fatiga o pérdida de energía, sentimiento de inutilidad o culpabilidad excesiva, pensamientos de muerte, ideas suicidas recurrentes, intento de suicidio o un plan específico para llevarlo a cabo, etc. Dichos síntomas deben presentarse casi todos los días durante un periodo mínimo de tiempo de dos semanas (American Psychiatric Association, 2013).

Actualmente existen múltiples tratamientos para la depresión, incluidos los medicamentos antidepresivos, psicoterapias y diversas técnicas de estimulación cerebral (Kennedy & Ceniti, 2018). El tratamiento utilizado para el TDM depende de la severidad, en general la psicoterapia es suficiente para atender la depresión leve; sin embargo, para los casos de mayor severidad se requiere el uso de fármacos; no obstante, la combinación de tratamientos suele recomendarse en la mayoría de los casos (Malhi & Mann, 2018). A pesar de ello, existe gran porcentaje de pacientes que no logran una remisión total de los síntomas y al menos el 53% de los pacientes no logran responder en su primer tratamiento; asimismo al menos ~33% de las personas con TDM no logran

obtener resultados satisfactorios después de su tercer tratamiento, a esto se le conoce como depresión resistente al tratamiento (Nemeroff, 2007; Rush et al., 2006). Es por ello que comienzan a surgir alternativas para poder tratar la depresión resistente al tratamiento, una de ellas es la estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr). Dicha técnica no invasiva consiste en la generación de un campo magnético que induce un campo eléctrico capaz de despolarizar las neuronas de la corteza, en 2008 la Food and Drug Administration (FDA), aprobó la utilización de la EMTr como un tratamiento alternativo debido a la resistencia a los fármacos en el TDM (FDA, 2011). Los protocolos aprobados consisten en estimular a 10 Hz la corteza prefrontal dorsolateral (CPFDL) izquierda a una intensidad del 120% del umbral motor del paciente, diariamente durante 4-6 semanas (Perera et al., 2016).

Hoy en día mucha de la investigación se ha centrado en descubrir los mecanismos de acción por las que la EMT funciona. Debido a la naturaleza de la técnica, las primeras explicaciones se concentraron en los fenómenos de potenciación a largo plazo o LTP (*long-term potentiation*, por sus siglas en inglés), y depresión a largo plazo o LTD (*long-term depression*, por sus siglas en inglés); Sin embargo, se ha observado que existen distintos mecanismos por los cuales la EMT podría estar actuando en el sistema nervioso (SN) (Kobayashi & Pascual-Leone, 2003; Pascual-Leone A. & Tormos-Muñoz J.M, 2008). No obstante, las investigaciones se habían concentrado para revelar el efecto que dicha técnica generaba en las neuronas, esto debido a la misma naturaleza de la técnica y su capacidad despolarizar células excitables como las neuronas. Por mucho tiempo se mantuvo cierto escepticismo del efecto que los campos magnéticos pudieran ejercer en que otras células residentes del SN como lo son las células gliales, que son consideradas células no excitables. Recientemente se ha comenzado a investigar cómo es que la EMT podría actuar en este tipo de células. Una de las principales células de interés son los astrocitos, donde hasta el momento

se ha observado que la estimulación magnética es capaz de generar cambios morfológicos y funcionales, tanto en modelos animales como en modelos *in vitro* (Cacace et al., 2017; Cullen & Young, 2016; Feng et al., 2021; Sasso et al., 2016). Estos potenciales efectos han generado interés ya que en depresión se ha observado en un análisis *post-mortem*, una disminución en la densidad de astrocitos (Cobb et al., 2016). Además de que los astrocitos mantienen un papel importante en la homeostasis y el buen funcionamiento del SN y la disfunción de este tipo celular tendrían un papel relevante en la patogenia del trastorno, así como un papel importante para el tratamiento (Cobb et al., 2016; Li et al., 2021; Rubinow et al., 2016; Zhao et al., 2022).

Se hipotetiza que la EMTr podría tener la capacidad de aumentar la densidad y funcionalidad de los astrocitos, este efecto podría estar contribuyendo con la mejora de síntomas depresivos, es por lo que se pretende investigar si la aplicación de un tratamiento de EMTr a 10Hz logra aumentar la densidad de astrocitos y disminuir los síntomas depresivos en un modelo de depresión en rata.

Antecedentes

Depresión

La depresión es una enfermedad que se caracteriza por la manifestación de episodios de tristeza y anhedonia (pérdida de placer), acompañado por un sentimiento de inutilidad, que causa gran sufrimiento, alterando las actividades laborales, escolares y familiares (Organización Mundial de la Salud, 2022).

Para su diagnóstico los profesionales de la salud cuentan con manuales como: el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales quinta edición (DSM-V) y la Clasificación internacional de enfermedades onceava edición (CIE-11). El TDM en el DSM-V se clasifica dentro

de los trastornos depresivos. Por otra parte, en el CIE-11, la depresión se encuentra dentro de la clasificación de los trastornos mentales del comportamiento y del neurodesarrollo subclasificada dentro de los trastornos del estado de ánimo, el diagnóstico es similar al DSM-V, ya que consideran que la persona debe presentar al menos un estado de ánimo deprimido y anhedonia además de los siguientes síntomas (American Psychiatric Association, 2013; Organización Mundial de la Salud, 2019):

- Pérdida o aumento importante de peso.
- Insomnio o hipersomnias casi todos los días.
- Agitación o retraso psicomotor casi todos los días (observable por parte de otros, no simplemente la sensación subjetiva de inquietud o de enlentecimiento).
- Fatiga o pérdida de energía casi todos los días.
- Sentimiento de inutilidad o culpabilidad excesiva inapropiada casi todos los días.
- Disminución de la capacidad para pensar, concentrarse o para tomar decisiones casi todos los días.
- Pensamientos de muerte, ideas suicidas recurrentes sin un plan determinado, intento de suicidio o un plan específico para llevarlo a cabo.

Es importante resaltar que para el diagnóstico se considera la duración de dichos síntomas, debido a que estos deben de presentarse casi todos los días durante un mínimo de dos semanas, además deben de existir cambios claros en el afecto, la cognición y las funciones neurovegetativas, de la misma manera estos cambios impiden o tienen un efecto significativo en el área social, laboral

u otras importantes en la vida diaria del individuo (American Psychiatric Association, 2013; Organización Mundial de la Salud, 2019).

Epidemiología

Según la Organización Mundial de la Salud (2022), la depresión es una de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial y se estima que afecta a más de 280 millones de personas, así mismo se cree que el 3.8% de la población experimenta depresión, incluido el 5% de los adultos y el 5.7% de los adultos mayores de 60 años (Instituto de Sanimetría y Evaluación Sanitaria, 2019). Aproximadamente cada año se suicidan más de 700 000 personas a causa del TDM. El suicidio es la cuarta causa de muerte en el grupo etario de 15 a 29 años (Evans-Lacko et al., 2018).

En un análisis sistemático se reveló que los trastornos depresivos son las primeras causas de discapacidad en el mundo a diferencia de otros tipos de trastornos mentales (GBD 2019 Mental Disorders Collaborators, 2022). En México existe una problemática en cuanto a la salud mental, ya que solo una de cada cinco personas con un trastorno psiquiátrico recibió algún tipo de atención y más de 75% de los casos graves/moderados en adultos no recibieron atención médica o psicológica por la carencia de acceso (Cerecero-García et al., 2020). Asimismo, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19 (INEGI -INSP, 2019), la depresión es considerada una de las enfermedades más incapacitantes en México, a su vez se estima una prevalencia del 17.9 % a nivel nacional, teniendo presencia en un 12% en varones mientras que en mujeres se estima que es del 22.5%. Así mismo la pandemia por COVID-19 ha provocado que la prevalencia de los trastornos depresivos aumentara de manera exorbitante a consecuencia esta pandemia ha creado una mayor urgencia de fortalecer los sistemas de salud mental en la mayoría de los países (COVID-19 Mental Disorders Collaborators (2021).

Etiología

A pesar de una gran prevalencia, el conocimiento sobre el surgimiento del TDM no está del todo claro, esto se debe a la dificultad de las investigaciones ya que por años el conocimiento que se tiene ha sido a través de estudios *post-mortem* y técnicas de neuroimagen, estas investigaciones son solo aproximaciones, sus limitantes no logran explicar la complejidad de los cambios y por ende, cómo estos cambios puntuales inciden en los síntomas causados por la depresión (Krishnan & Nestler, 2008). Esta heterogeneidad es un factor importante del desconocimiento que se tiene de dicho trastorno, debido a que se ha observado la participación de factores genéticos, neuroendocrinos, neuroquímicos, inmunitarios, sociodemográficos, demográficos, culturales, estilo de vida y psicológicos (Belmaker & Agam, 2008).

En cuanto a la parte genética, el estudio en gemelos arrojó que la heredabilidad de la depresión era aproximadamente del 37% y que dicha probabilidad aumentaba dependiendo del género, habiendo mayor prevalencia en mujeres que en hombres (Kendler et al., 2006). Dichos resultados concuerdan con estudios donde se cuantifica el riesgo de probabilidad de padecer depresión para familiares primarios de personas con el trastorno, comparado con otros estudios se ha estimado que existe ~40 % de heredabilidad en el TDM (Penner-Goeke & Binder, 2019; Sullivan et al., 2000). Sin embargo, los estudios de asociación genética no han descubierto modificadores de riesgo genético fuertes y consistentes, nuevamente esto se debe a la heterogeneidad de los síndromes depresivos (Krishnan & Nestler, 2008).

Se ha observado que existen varias alteraciones moleculares que interactúan dentro de los trastornos depresivos, las cuales son: 1) Alteración en las monoaminas, 2) desregulación del ácido gamma aminobutírico (GABA) y glutamato, 3) aumento de la hormona liberadora de

corticotropina, 4) niveles bajos del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), 5) marcadores de estrés oxidativo (Hao, 2019; Belmaker y Agam, 2008), etc.

El estrés tanto fisiológico como psicológico son experiencias comunes y necesarias en la vida diaria, ya que es la respuesta a eventos desafiantes y agotadores que a la larga podrían ser dañinos para el individuo, llevando a experimentar sensaciones desagradables y como consecuencia en algunos casos a la manifestación de síntomas depresivos y posterior a ello al trastorno en sí (Ding & Dai, 2019). Esta respuesta al estrés es mediada por el eje hipotálamo-pituitario suprarrenal (HPA), un sistema de retroalimentación negativa que se encarga de regular las respuestas fisiológicas del estrés, ya que permite que el organismo responda a amenazas al priorizar funciones necesarias para el comportamiento defensivo sobre las funciones fisiológicas de sustento; no obstante, la sobreactivación de dicho eje podría ser una causa importante de TDM (Belmaker & Agam, 2008; Cruz-Pereira et al., 2019; Ding & Dai, 2019).

El hipotálamo contiene neuronas neuroendocrinas que secretan la hormona liberadora de corticotropina (CRH). La CRH, a su vez, actúa sobre la glándula pituitaria para estimular la producción y liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), en el torrente sanguíneo. Esta señal hormonal llega a las glándulas suprarrenales. Al estimular las glándulas suprarrenales estas liberaran corticosteroides, como es el cortisol en humanos y la corticosterona (CORT) en roedores (Cruz-Pereira et al., 2019; Demorrow, 2018).

Existen dos tipos de vías de respuesta al estrés las cuales producen efectos sistémicos en tiempos diferentes y con intensidades variables dependiendo las características de los estímulos estresantes (Cruz-Pereira et al., 2019; Demorrow, 2018):

1. La estimulación neuronal inicia el primer mensaje (Figura 1a): la liberación de epinefrina y norepinefrina de la médula suprarrenal. Esto activa el sistema nervioso simpático, lo que resulta en una elevación de la frecuencia cardíaca, del flujo sanguíneo y de la respiración, procesos diseñados para activar estados de alerta y excitación.
2. La ACTH inicia el segundo mensaje (Figura 1b): la liberación de glucocorticoides (cortisol o CORT) por la corteza suprarrenal. Los glucocorticoides movilizan las reservas energéticas de glucosa y promueve la gluconeogénesis a través del catabolismo de ácidos grasos y proteínas. También inhibe temporalmente las respuestas inmunitarias e inflamatorias.

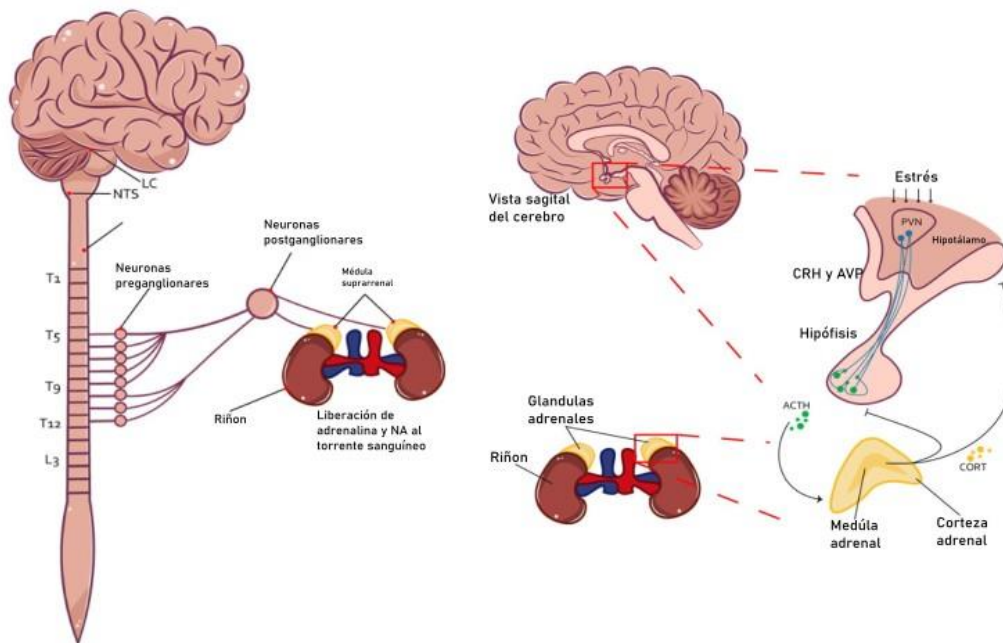


Figura 1. Respuesta al estrés. a) Eje Simpático-adrenal-medular; b) Eje Hipotálamo-Pituitario-Adrenal. Locus coeruleus (LC); Núcleos del tracto solitario (NTS); Noradrenalina (NA); Núcleo Paraventricular Hipotalámico (PVN); Hormona liberadora de Corticotropina (CRH); Arginina vasopresina (AVP); Hormona adrenocorticotrófica (ACTH); Glucocorticoides (cortisol o corticosterona) (CORT). Adaptado de “Stress, a brief update.” (p. 105-121), por Valencia-Florez, K. B., Sánchez-Castillo, H., Baruch, K., Vázquez, P., Zarate, P., & Paz, D. B. (2023), *International Journal of Psychological Research*, 16 (2).

Cuando los niveles de glucocorticoides en sangre alcanzan un cierto umbral, se desencadena un bucle de retroalimentación negativa que inhibe la actividad tanto del hipotálamo como de la hipófisis. Esto desactiva el eje HPA y detiene la respuesta al estrés (Demorrow, 2018).

Ahora bien, los glucocorticoides que llegan al sistema nervioso central (SNC), actúan a través de dos tipos de receptores, los receptores de mineralocorticoides (MR) y los receptores de glucocorticoides (GR), que están distribuidos en el cerebro. Los GR se encuentra en hipocampo, amígdala, y corteza prefrontal, regiones importantes para el funcionamiento ejecutivo, aprendizaje, emociones, además de participar activamente para la regulación del eje HPA (Mifsud & Reul, 2018).

En hipocampo cambian la excitabilidad celular, y a través de estos receptores se mantiene la transmisión glutamatérgica, hasta que los receptores GR provocan una supresión retardada de la transmisión sináptica y la plasticidad, lo que presumiblemente normaliza los aumentos de actividad dependientes del estrés. Durante un estrés crónico, se liberan más glucocorticoides llevando a una desregulación en el eje HPA que puede llevar a efectos perjudiciales modificando procesos de neurogénesis, plasticidad, aprendizaje. Se ha observado que esta actividad desreguladora del eje está relacionada con una disminución de: factores tróficos, en especial el BDNF; de memoria, y cambios metabólicos e inflamatorios (Dean & Keshavan, 2017; Ding & Dai, 2019). Estos cambios están presentes en la neurobiología de pacientes deprimidos, así como en modelos animales, de igual forma, el cortisol puede conducir a una disminución en la actividad de varios sistemas claves en la fisiopatología de la depresión tales como el sistema: dopaminérgico, serotoninérgico, noradrenérgico (Dean & Keshavan, 2017; Ding & Dai, 2019; Menke, 2019). La norepinefrina modula la función de la corteza prefrontal, el procesamiento de la memoria de trabajo y regula el comportamiento y la atención, también juega un papel en la adquisición de

recuerdos. La serotonina (5-hidroxitriptamina: 5-HT), inerva todas las áreas del cerebro y es el sistema de neurotransmisores cohesivo más grande del cerebro, mientras que la dopamina (DA), modula las funciones de recompensa y motivación, la memoria de trabajo y la atención (Jesulola et al., 2018).

A su vez la inflamación es una de las explicaciones que ha empezado a tomar fuerza debido a la participación tanto de la microglía como de los astrocitos, en la actividad del eje HPA (Belmaker & Agam, 2008; Cruz-Pereira et al., 2019; Ding & Dai, 2019).

Modelos de Depresión

A lo largo del tiempo el desarrollo de la ciencia básica ha sido fundamental para encontrar las piezas claves que permiten explicar fenómenos complejos tales como los trastornos mentales. Sin embargo, el TDM ha presentado un reto en especial debido a la heterogeneidad tanto de su etiología como de sus síntomas y por lo que se ha dificultado encontrar un modelo animal que represente la depresión. Además, cabe recalcar que algunos síntomas centrales como el estado de ánimo deprimido, el sentimiento de inutilidad y los pensamientos recurrentes de muerte o suicidio, son imposibles de modelar en animales de laboratorio (Yan et al., 2010).

Hao y colaboradores (2019), mencionan tres criterios esenciales para evaluar la fiabilidad de un modelo animal de depresión los cuales serían: validez aparente, validez de construcción y validez predictiva. Dichos criterios fueron descritos por Willner (1984), quien establece que la validez aparente apunta a la similitud de los síntomas observados en el modelo y en el trastorno; la validez predictiva debe permitir que el modelo discrimine entre tratamientos verdaderos o falsos y entre tratamientos eficientes e ineficientes. Finalmente, la validez de constructo se cumple si se pueden establecer conexiones inequívocas tanto teóricas como empíricas entre el modelo y el trastorno. El modelado reciente de la depresión se ha basado en gran medida en estas tres

características. Algunos de estos modelos son: inducidos por reserpina, indefensión aprendida, estrés crónico variable leve, estrés por derrota social, etcétera (Harro, 2019).

Modelo por Reserpina

El modelo inducido por reserpina actúa con un desequilibrio de moléculas, ya que la reserpina es un inhibidor de la recaptación de vesículas de monoaminas como la serotonina y norepinefrina, con ello interrumpe el proceso de recaptura en la célula presináptica, esto lleva a que los neurotransmisores sean degradados por la monoamino oxidasa, llevando a una deficiencia de catecolaminas, dando como resultado apoptosis, hipotermia e inhibición motora (Belmaker & Agam, 2008; Hao et al., 2019; Raupp-Barcaro et al., 2018).

Hao y colaboradores (2019), señalan que dicho modelo posee una validez aparente alta en ansiolíticos. Otra de sus ventajas es el tiempo requerido para la implementación del modelo, además de que presenta poco dolor para el animal y que cuenta con una validez predictiva media. La desventaja del modelo radica en la poca validez de constructo ya que el modelo establece que uno de los mecanismos de la depresión es el estrés y este modelo carece de ello, lo cual conlleva a dudar de la confiabilidad.

Modelo de indefensión aprendida

Este modelo parte del fenómeno de una baja intención del animal de escapar a estímulos aversivos incontrolables e impredecibles. En dicho modelo se han observado cambios en los niveles de catecolaminas teniendo como resultado una alta validez predictiva. Existen varios métodos para la inducción del modelo; no obstante, el más utilizado ha sido el descrito por Overmier y Seligman (1967), en el cual le aplican al animal un shock eléctrico.

Las ventajas de dicho modelo son que los animales presentan síntomas agudos de la depresión y estos puede revertirse con antidepresivos convencionales, el modelo también ha demostrado presentar un deterioro cognitivo lo que lo vuelve ideal para distintos estudios que se encargan en descubrir la relación de la depresión con la cognición y los circuitos que participan en ello. Dado a lo anterior el modelo presenta una validez aparente y predictiva alta. La desventaja del modelo es la corta duración, la subjetividad de los criterios que presentan un gran impacto en los resultados conductuales y por último la variedad de respuestas entre especies (Hao et al., 2019; Maier & Seligman, 2016).

Estrés crónico impredecible leve

El modelo de estrés crónico leve impredecible o CUMS (por sus siglas en inglés), parte de impedir la adaptación a una sola presentación de un estresor para producir “depresión” a largo plazo en grupos de animales (Hao et al., 2019). Para la inducción del modelo se aplican una serie de estresores que se realizan aleatoriamente todos los días durante un mínimo de 3 semanas, a partir de la tercera semana se han observado cambios en pruebas conductuales cómo la prueba de preferencia a la sacarosa, prueba de natación forzada y campo abierto (Hao et al., 2019; Strekalova et al., 2022; Wiborg, 2013). La manifestación por excelencia del modelo es la anhedonia, un síntoma básico en pacientes con depresión, la anhedonia se evalúa a través de la prueba de preferencia a la sacarosa.

Una de las características y ventajas es la duración de los efectos conductuales ya que tienen una gran duración y es perfecta para estudios de larga duración, además de contar con una validez predictiva buena ya que es posible revertir las alteraciones en el comportamiento con antidepresivos comunes. También, posee una gran validez de constructo, ya que muestra un efecto causal cercano entre los factores de riesgo de depresión y los métodos de tratamiento, por último,

mantiene una validez aparente obvia, ya que no solo simula los síntomas clínicos de la mayoría de los casos de depresión en humanos, sino que también enfatiza la anhedonia como una característica crucial y medible (Antoniuk et al., 2019; Willner, 2016).

Las desventajas del modelo de CUMS son la gran variedad de protocolos, además de los recursos humanos y espacios experimentales, alta mortalidad de animales, subjetividad en criterios de evaluación que trae como resultado una eficacia relativa baja (Antoniuk et al., 2019; Hao et al., 2019). Actualmente, el modelo CUMS es ampliamente utilizado y estudiado para investigar el mecanismo subyacente, la etiología y las líneas animales emergentes de la depresión (Strekalova et al., 2022).

Modelo de estrés de derrota social

El modelo parte de la idea que uno de los desencadenantes del trastorno depresivo es dado por el entorno social en el que se desarrolla el individuo, una alta presión social da lugar a un daño en circuitos neuronales primarios, esta característica brinda de validez de constructo, debido a que el paradigma simula la patogénesis a nivel social (Hao et al., 2019; Petković & Chaudhury, 2022).

El modelo consiste en la exposición repetida y a largo plazo (durante 10 a 21 días) a estrés social en machos a través de la exposición de un roedor experimental en una jaula de un rata más agresiva que atacará e intentará dominar al sujeto experimental (Petković & Chaudhury, 2022), a partir de la exposición en el animal experimental se producen cambios conductuales y psicosociales a largo plazo, teniendo como efecto aislamiento y evitación social, además de una reducción en el comportamiento sexual (Carnevali et al., 2020; Hao et al., 2019).

El modelo de estrés por derrota social presenta un nivel de validez aparente y de constructo alto, ya que es posible simular los casos de depresión en humanos causados por presión social, los

antidepresivos crónicos revierten parcialmente los síntomas de depresión por lo que cuenta con validez predictiva, una ventaja es el tiempo corto para el establecimiento del modelo y con efectos que duran en promedio 20 días (Hao et al., 2019; Petković & Chaudhury, 2022). Sin embargo, las desventajas del modelo radican en que los síntomas que se reportan usualmente pueden confundirse por síntomas ansiosos, además de contar con la variable de género ya que se basa en pacientes masculinos, lo que a su vez pudiera estar creado otro sesgo al ignorar las diferencias basadas en el género (Hao et al., 2019; Petković & Chaudhury, 2022).

Otros modelos

En la última década se han propuesto varios métodos de modelado novedosos, como el modelo de lesión y el modelo de exposición oral crónica a CORT. Sin embargo, dichos modelos suelen no cumplir con el mínimo de validez, como predictiva, aparente o de constructo para ser considerados buenos modelos; no obstante, no dejan de ser una opción y con el crecimiento y mejoramiento de los modelos poder ser ocupados para distintos tipos de estudios (Belmaker & Agam, 2008; Hao et al., 2019; Harro, 2019; Petković & Chaudhury, 2022).

Estimulación Magnética Transcraneal

La estimulación magnética transcraneal (EMT), es una herramienta usada tanto en la clínica como en la investigación, ya que tiene la capacidad de inducir corriente eléctrica de forma no invasiva en el cerebro, dicha técnica se basa en los principios de inducción electromagnética propuestos por Michael Faraday en 1831. Este principio establece (Figura 2), que al realizar una transmisión de un pulso intenso y breve de corriente a través de una bobina da lugar a un campo magnético perpendicular al plano de la bobina que posteriormente genera un campo eléctrico que es capaz de inducir corriente eléctrica a las neuronas y con ello modular su actividad (Eldaief et al., 2013).

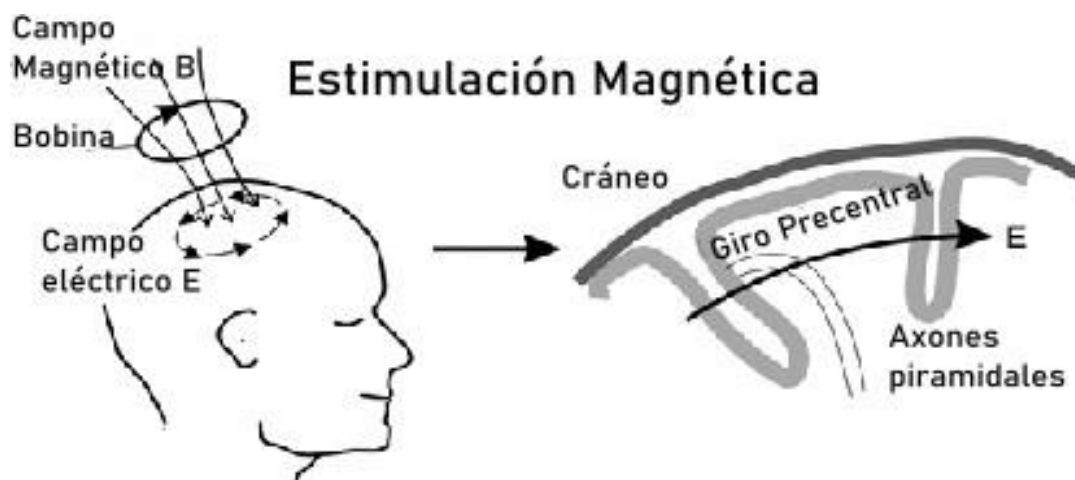


Figura 2. Principios de la estimulación magnética transcraneal. Modificado de “*Magnetic stimulation in clinical neurophysiology*” (2 ed. p. 18), por Ruohonen, J., & Ilmoniemi, R. J., 2005, Butterworth-Heinemann.

Baker y colaboradores (1985), serían los primeros en crear un estimulador capaz de despolarizar neuronas de la corteza motora y evocar movimientos. A partir de ahí se comenzó a implementar esta herramienta neurofisiológica para el mapeo cerebral, ya que es un complemento ideal para otras técnicas de neuroimagen ocupadas para el diagnóstico e investigación. Por sus características particulares como la capacidad espacial y temporal suele tener ciertos beneficios versus otras técnicas, debido que en la práctica permite observar las relaciones causales entre el cerebro y el comportamiento (Valero-Cabré et al., 2017). Si bien la EMT se ha usado con más frecuencia como herramienta de investigación para estudiar la fisiología del cerebro, esta tiene cierta utilidad clínica y actualmente se está desarrollando como herramienta terapéutica (Medina et al., 2014; Pascual-Leone & Tormos-Muñoz, 2008).

De igual forma el método de aplicación de la EMT sigue distintos métodos de aplicación: pulso simple, estimulación repetitiva, etc. El de pulso único como su nombre lo delata es la exposición de un solo pulso cada tres o más segundos en una determinada región o en varias, usualmente se ocupa este tipo de aplicación para evaluar el umbral motor, identificar el patrón que sigue el reclutamiento interneuronal relacionado con el funcionamiento del tracto corticoespinal,

evaluar el tiempo de conducción central motor, estudiar el período silente, evaluar el estado de las vías cortico-motoras que controlan los músculos faciales (León-Sarmiento et al., 2013).

Estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr)

Se ha observado que existe un tipo de EMT que tiene la capacidad de alterar la excitabilidad neuronal por un tiempo más prolongado superando el tiempo de estimulación. Esto surge a partir de una estimulación caracterizada por la aplicación de varios pulsos de la misma intensidad determinada por unidad de tiempo, aplicados a una sola área del cerebro (Kobayashi & Pascual-Leone, 2003) y se ha denominado Estimulación Magnética Transcraneal Repetitiva.

La EMTr es capaz de modular la excitabilidad cortical ya sea inhibiendo o potenciando dicha excitabilidad, de acuerdo con lo observado en la configuración de EMTr estos efectos de inhibición o excitación dependerán de la frecuencia que se administre. Dentro de la clasificación de EMTr tenemos a la de baja frecuencia y de alta frecuencia. La EMTr a baja frecuencia serán aquellas que están a ≤ 1 Hz y la EMTr de alta frecuencia, serán cuando se administre a frecuencias ≥ 5 Hz. Se sabe que la EMTr a bajas frecuencias produce efectos inhibitorios y por el contrario la EMTr a altas frecuencias tendrá como resultados excitatorios en la corteza cerebral (Medina et al., 2014; Pascual-Leone & Tormos-Muñoz, 2008).

Hoy en día existen protocolos para diversas condiciones psiquiátricas, entre los que se encuentran protocolos para el TDM con estimulación de la CPFDL izquierda con altas frecuencias, la CPFDL derecha con bajas frecuencias, la estimulación simultánea de ambas cortezas y el uso de theta burst (Lefaucheur et al., 2020).

Mecanismos de acción de la EMTr

Se ha propuesto que los efectos a largo plazo se producen a través de la modificación transitoria de la eficacia sináptica de circuitos específicos de la corteza cerebral, a partir de esto se ha señalado que los mecanismos responsables son parecidos a la potenciación a largo plazo o Long-Term Potentiation (LTP, por sus siglas en inglés) y la Depresión a largo plazo o Long-Term Depression (LTD, por sus siglas en inglés). La LTP se describe como un aumento en la eficiencia de las conexiones sinápticas que puede durar días o incluso semanas y meses, este mecanismo puede ser inducido bajo condiciones experimentales mediante una breve estimulación magnética a altas frecuencias, por el contrario, la LTD se definiría como el debilitamiento de las sinapsis neuronales (Duffau, 2006).

Se ha observado que la EMTr logra el incremento de algunas moléculas relacionadas a la plasticidad y al incremento de proteínas cinasas necesarias para LTP, que a su vez lleva a la activación de cascadas que permiten la fosforilación de factores de transcripción que darán origen a la síntesis de proteínas, y a partir de ello se ha visto de igual forma expresión de genes que codifican para distintos factores tróficos como el BDNF, esta evidencia apoya la idea de que la EMTr induce fenómenos de neuroplasticidad a través de LTP/LTD.

Otros de los mecanismos propuestos han sido los efectos neuroprotectores inducidos por la EMT. Estos efectos son capaces de reducir el estrés oxidativo, así como provocar un descenso en los niveles de lactato deshidrogenasa y caspasa 3, asociados a un incremento en el número de células presentes en el área cerebral estudiada en modelos de animales lesionados y tratados con EMT (Medina et al., 2014). Esta reducción parece clara ya que se ha comprobado que muchas de las enfermedades neurodegenerativas tienen una respuesta subiendo el nivel de estrés oxidativo y con ello llevar a una apoptosis perjudicial para el sistema.

Hoy en día mucha de la investigación se ha centrado en descubrir los mecanismos de acción que tiene la EMT en la célula nerviosa; sin embargo, sólo en años recientes se ha empezado a investigar cómo es que la EMT está afectando a otras células no nerviosas ya que es probable que los efectos beneficiosos experimentados por los pacientes e investigaciones básicas incluyen la activación indirecta de otros tipos de células. Además, se especula que cada tipo de célula glial tiene la capacidad de responder a la actividad eléctrica directa o indirectamente, lo que las convierte en posibles efectores celulares de la EMT (Cullen & Young, 2016).

Células gliales

Además de las neuronas existen otra clase de células que se encuentran en el SN, dichas células reciben el nombre de células gliales o células no nerviosas. Según Fine (2019), existen tres tipos de células gliales en el SNC las cuales son: astrocitos, oligodendrocitos y microglía. En el sistema nervioso periférico (SNP), las células de Schwann realizan una función similar a la de los oligodendrocitos del SNC.

Astroцитos

Los astrocitos suelen ser denominados las células gliales de apoyo en el tejido neural por sus diferentes funciones, se dice que son el tipo de célula más abundante ya que representan aproximadamente del 20 % al 40 % del número total de células cerebrales en mamíferos (Herculano-Houzel, 2014). En general, los astrocitos suelen rodear las sinapsis ya que se encargan de regular y mantener la concentración extracelular de iones Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^{2-} , además de otros componentes necesarios para el buen funcionamiento neuronal (Fine, 2019; Herculano-Houzel, 2014).

Se ha observado el papel fundamental del astrocito para que las células nerviosas logren funcionar adecuadamente, ya que en algunos estudios se ha comprobado su importancia en la

regulación metabólica, además de su participación en la formación y eliminación de sinapsis (Farhy-Tselnicker & Allen, 2018). Estas características fueron descritas por Araque y colaboradores (1999), que además de ello introdujeron el concepto de “sinapsis tripartita” una sinapsis compuesta por dos neuronas y un astrocito como unidad funcional, en esta sinapsis tripartita los neurotransmisores liberados por una neurona presináptica logran unirse a los distintos receptores que tienen los astrocitos para así activar vías de señalización para modular la actividad sináptica. Para esta modulación, los astrocitos cuentan con transportadores de glutamato, cuya función es tomar al glutamato liberado de las células excitatorias presinápticas, esta particularidad prevé el exceso y la acumulación del neurotransmisor en la sinapsis (Figura 3), lo cual evita que haya una sobreexcitación en la célula postsináptica y a su vez muerte celular. Ahora bien, después de tomar el glutamato, los astrocitos lo convierten en glutamina a través de una enzima llamada glutamina sintetasa (que solo se encuentra en los astrocitos), después de ello la glutamina es devuelta y tomada por las neuronas que posteriormente será usada para la resíntesis de glutamato (Fine, 2019).

Las funciones descritas han sido observadas en ausencia de anormalidades; sin embargo, se tiene evidencia que existe un cambio en la actividad de las células gliales en distintas patologías y lesiones. Hablar de patologías nos hace adentrarnos al concepto de astrogliosis reactiva. En general, el proceso conocido como astrogliosis reactiva, es la respuesta a lesiones patológicas donde los astrocitos experimentan cambios característicos en la expresión génica para adoptar distintos estados moleculares y que afectan potencialmente propiedades generales de los astrocitos, incluida la morfología, proliferación y señalización (Escartin et al., 2021). Adicionalmente el marcador de proteína ácida fibrilar glial (GFAP), ha sido de los más utilizados para observar la reactividad astrogliar, ya que este método permite marcar selectivamente astrocitos

inmunorreactivos (IR), y en preparaciones de tejido que son compatibles con métodos anatómicos más convencionales (O'Leary & Mechawar, 2021).

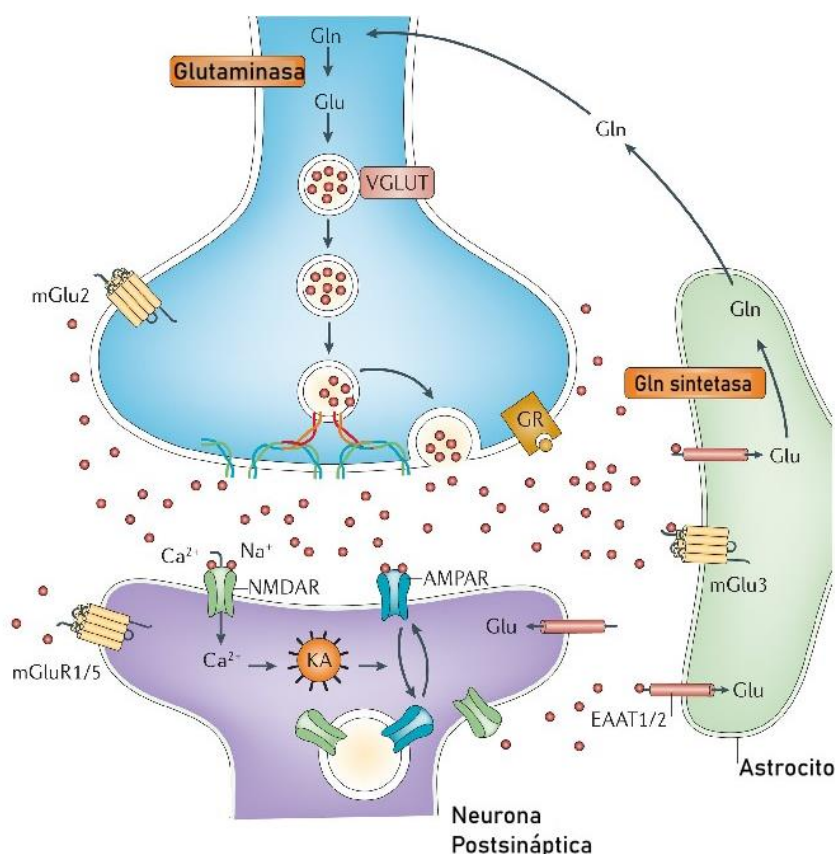


Figura 3. Esquematización de la sinapsis tripartita del glutamato. La regulación del glutamato y demás neurotransmisores esta acargo de los astrocitos, dicho mecanismo promueve la homeóstasis y evita la ecotoxicidad. Glutamato (Glu); Glutamina (Gln); Transportadores vesiculares de glutamato (vGluT); Transportadores de aminoácidos excitadores (EAAT); en las células gliales vecinas (EAAT1 y 2) y, en menor medida, en las neuronas (EAAT 3 a 5). Adaptado de “The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission.” (pp. 22–37), por Popoli, M., Yan, Z., McEwen, B. S., & Sanacora, G. (2011), *Nature reviews. Neuroscience*, 13(1).

Astrocitos y depresión

La astrogliosis reactiva, se observa comúnmente en patologías cerebrales y ha dado lugar a investigaciones sobre cómo los astrocitos contribuyen a los mecanismos de los trastornos cerebrales (Dossi et al., 2018). Se ha mencionado que los astrocitos mantienen una respuesta

reactiva para la reparación del daño en el sistema nervioso, muchas veces esta activación astrocítica trae consigo un aumento de productos inflamatorios y respuestas que pudieran ser perjudiciales para el SNC.

La disfunción de los astrocitos parece ser muy particular en el TDM, se han descubierto principalmente tres líneas de evidencia sobre lo que sucede en la depresión. La primera sugiere que existe menor densidad y por lo tanto menor número de astrocitos en varias regiones del cerebro incluida la corteza prefrontal, CPDL, locus coeruleus, hipocampo, amígdala y tálamo. Además de esta disminución también reportan una alteración en su morfología y función del astrocito, aunado a esto se ha observado que existe una reducción del ARNm y de la proteína GFAP en pacientes con TDM (Liu et al., 2022; O'Leary & Mechawar, 2021). A su vez se ha visto que un efecto antidepresivo de varios agentes terapéuticos también regula indirectamente el número de astrocitos, lo que confirma la participación de los astrocitos en la aparición del TDM (Zhao et al., 2022).

Otra de las disfunciones descritas ha sido la desregulación de distintos neurotransmisores, cómo el glutamato, GABA, glutamina, al igual que una disminución en la liberación de factores neurotróficos por parte de los astrocitos en regiones frontales, lo que indica que la señalización de astrocitos y neuronas está alterada fuera de la sinapsis tripartita en TDM (Ordway et al., 2012). No obstante, pareciera ser que existe una disfunción en la interacción con otro tipo de células distintas a las neuronas ya que se ha observado menor contacto vascular y menores conexiones con oligodendrocitos.

Los astrocitos del hipocampo median el comportamiento depresivo inducido por el estrés crónico (Du Preez et al., 2021; Hisaoka-Nakashima et al., 2020). Tomados en conjunto, estos

hallazgos indican que los cambios dinámicos en la glía y sus interacciones contribuyen a los procesos inflamatorios involucrados en la depresión (Guo et al., 2022).

Astroцитos y EMTr

En la literatura se ha empezado a proponer que la EMT tuviese un efecto en los astroцитos y que estos efectos podrían ser benéficos y ayudar en la recuperación de distintas patologías. Si bien se sabe que los astroцитos son capaces de mantener un equilibrio de iones en la sinapsis se ha observado que estos también tendrían la capacidad de mantener la concentración de neurotransmisores como la DA. Cacace y colaboradores (2017), aplican estimulación theta burst intermitente (iTBS) a 10 Hz en un modelo de hemiparkinson y observaron que este tipo de células parece tener la capacidad de actuar como un reservorio de DA, de igual forma la EMT logra un incremento en el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF). Por otra parte, en un modelo de depresión, Peng et al. (2018), observaron una disminución de Sirtuina 1 o Sirt-1 y de la monoamino oxidasa MAO-A, proponiendo que este efecto podría ser el causante de dejar mayor disponibilidad de neurotransmisor en la sinapsis. Por su parte Fujiki & Steward (1997), observaron que la estimulación magnética tenía un efecto en el ARNm de GFAP en el giro dentado del hipocampo y la corteza cerebral, y proponen que esta alza de ARNm se debe al incremento de factores tróficos.

Ahora bien, los diferentes estudios con EMTr en distintas patologías han demostrado que la estimulación de alta frecuencia parece atenuar la expresión de GFAP, lo cual estaría significando que la EMTr de alta frecuencia muestra una disminución en la reactividad astrocitaria y a su vez esto estuviera favoreciendo en la recuperación del SN (Feng et al., 2021; Hong et al., 2020; Kim et al., 2013; Medina et al., 2014; Sasso et al., 2016; Stevanovic et al., 2019; Yang et al., 2018).

La reactividad astrocítica parece ser uno de los efectos más relevantes que se da con la EMTr; sin embargo, algo que ha caracterizado a la estimulación magnética es inducir un alza en la liberación de factores tróficos (Cullen & Young, 2016). El BDNF, es liberado clásicamente por las neuronas; sin embargo, se ha observado que puede existir liberación de dicho factor en otro tipo de células como lo son los astrocitos, paralelamente se ha observado que en presencia de algún daño del SNC hay un alza de este factor. El papel del BDNF astroglial parece ser una medida neuroprotectora durante condiciones fisiológicas y patológicas del cerebro (Riley et al., 2004; Saha et al., 2006). Esta liberación podría ser un factor clave para la reorganización y regeneración de la sinapsis; en un protocolo de iTBS de 50 Hz y cTBS de 5 Hz se demostró una elevación en la expresión de BDNF (Stevanovic et al., 2019), de igual forma se ha demostrado que la EMTr a 10 Hz logra elevar dicho factor y atenuar la reactividad glial (Feng et al., 2021).

Justificación

Debido a la cantidad de personas que sufren depresión y al alto porcentaje de pacientes resistentes al tratamiento farmacológico, es de interés tomar alternativas efectivas como la EMTr. En la depresión se ha observado que existe una desregulación en la función astrocítica, además, la EMTr parece ser una herramienta que puede llegar a tener un efecto en la reactividad astrocítica, es por ello que el conocimiento del efecto de la estimulación en los astrocitos podría ser una ventana terapéutica para poder comprender cómo es que esta herramienta es capaz de mejorar la sintomatología depresiva.

Pregunta de investigación

¿La EMTr de alta frecuencia aumenta la densidad astrocítica en corteza cerebral e hipocampo y disminuye las conductas tipo depresivas en un modelo de estrés crónico variable impredecible?

Objetivos

Objetivo general

Observar el efecto de la EMTr en la densidad de astrocitos en corteza e hipocampo en un modelo animal de depresión.

Objetivos específicos

Inducir el modelo de depresión en ratas Wistar macho por medio de estrés crónico variable impredecible moderado (CUMS).

Analizar si al aplicar EMTr de 10 Hz a ratas deprimidas tiene un efecto en el número de astrocitos en corteza cerebral e hipocampo por medio de inmunohistoquímica.

Analizar si al aplicar EMTr a 10 Hz existen cambios conductuales en ratas después de aplicar CUMS.

Realizar pruebas conductuales e inmunohistoquímicas en animales con falsa estimulación para descartar un efecto placebo de las condiciones del experimento.

Hipótesis

Existe un efecto en la densidad de astrocitos con la EMTr de altas frecuencias en un modelo de depresión en rata Wistar.

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Diseño experimental de grupos independientes, pre y post (Figura 4). Debido a que se comparó al grupo que recibe EMTr de 10 Hz (n=12) versus al otro grupo que recibe una estimulación simulada o SHAM (n=13) y así comparar si la EMTr (Variable independiente) tiene un efecto en la densidad de astrocitos y en las conductas tipo depresivas (variables dependientes).

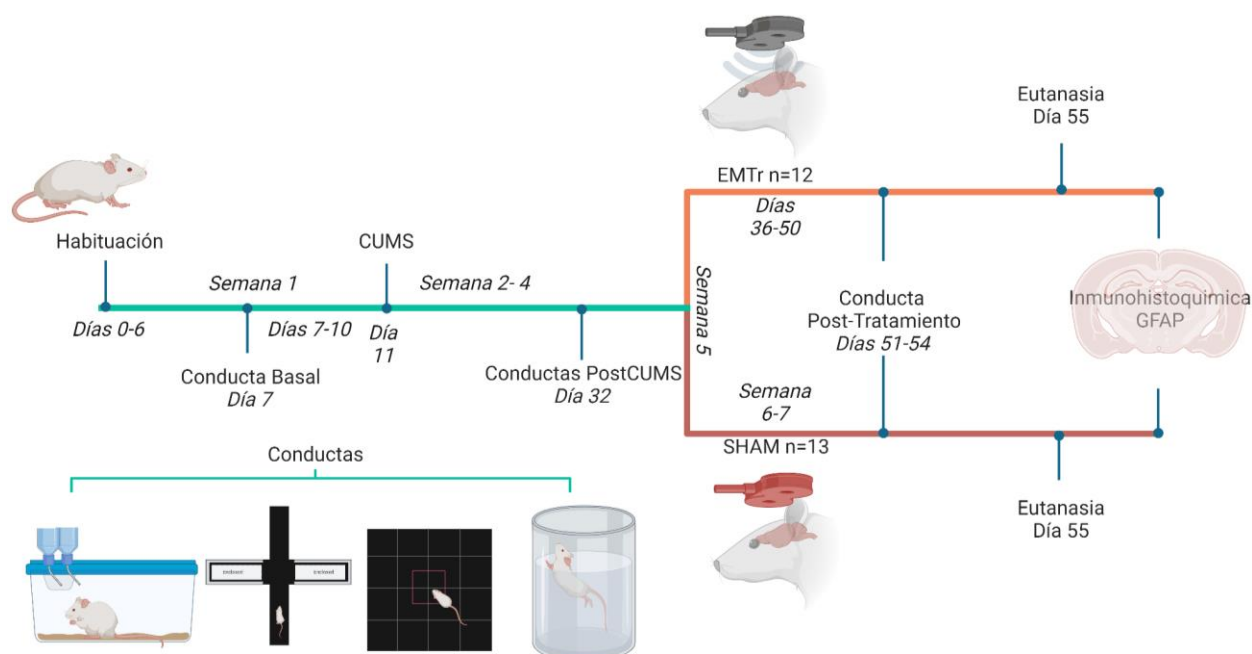


Figura 4. Diseño experimental y línea del tiempo; el esquema se muestra en días y su conversión en semanas. Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS); Estimulación Magnética transcranial (EMTr); Falsa estimulación (SHAM). Creado con Biorender.

Sujetos

Se realizaron dos grupos con 25 ratas macho de la cepa Wistar con un peso aproximado de 180-200 g al inicio del experimento. Los animales permanecieron en cajas individuales de acrílico transparente, a una temperatura constante de 20 ± 1 °C, en ciclo invertido de luz oscuridad 12:12 (luz prendida 19:00-7:00), con comida y agua *ad libitum*. Los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y manejo

de animales (NOM-062-ZOO-1999) y fueron aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina, UNAM (proyecto no. 109-2020).

Se realizó el seguimiento del peso a todos los animales durante todo el experimento hasta la eutanasia, posterior a ello se realizó un análisis donde se sacaron las diferencias de pesos entre semanas, partiendo como semana 0 la primera medición que fue cuando los animales mantenían un peso entre 180-200 g.

Pruebas conductuales

Todas las pruebas se realizaron en un cuarto aislado, de 9:00 am a 12:00 pm cuando los animales se encontraban en la fase de oscuridad. La habitación donde se mantenía una iluminación a oscuras (0 lux).

Nado Forzado

Se ha observado que los roedores obligados a nadar en un espacio estrecho donde no hay escapatoria, después de un periodo inicial de intentar salir, los animales mantienen una conducta inmóvil, moviéndose solo cuando es necesario (Castagné et al., 2011). Esta conducta de inmovilidad se interpretó como una falta de motivación del animal por escapar y se le denominó “desesperanza aprendida o desesperanza conductual”, se descubrió que dicha inmovilidad podía ser disminuida por una amplia gama de antidepresivos, es por ello por lo que esta prueba ha sido utilizada ampliamente para observar el efecto de nuevos tratamientos en depresión por el nivel de validez predictiva que tiene.

Para realizar la prueba de nado forzado se utilizó un cilindro de acrílico transparente (25cm x 40cm; diámetro x altura) lleno de agua a una altura de 28 cm con temperatura de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Figura 5). La prueba se realizó siguiendo el protocolo de Slattery & Cryan (2012), la cual consistió en

una sola exposición durante 6 minutos, dejando 2 minutos de habituación, durante los últimos 4 minutos se registró el tiempo y la frecuencia de las conductas de inmovilidad, escalado, nado pasivo y buzos. Se consideraba que los animales estaban inmóviles cuando permanecían flotando pasivamente en el agua, realizando sólo pequeños movimientos para mantener la cabeza fuera del agua. La prueba fue videograbada para posteriormente ser analizado por un diseño simple ciego, donde un observador que desconocía las condiciones de cada grupo y de los tratamientos administrados analizó las videograbaciones.

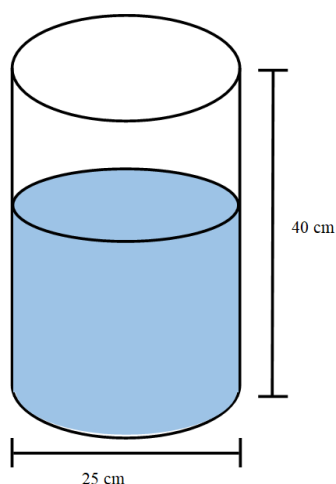


Figura 5. Cilindro de nado forzado con 25cm x 40cm diámetro x altura, y lleno de agua a 28 cm de tal forma que la rata no pudiera apoyarse con la cola ni con las patas.

Campo Abierto

La prueba de campo abierto (OFT por sus siglas en inglés) imita un entorno inseguro y evalúa la actividad locomotora y la exploración del animal. Generalmente, los animales temen un ambiente novedoso y se desplazan continuamente en los alrededores de una caja negra y rara vez en su área central. Sin embargo, existe una conducta natural que los animará a explorar la zona central. Dicha prueba es excelente para medir el miedo y la desesperación; tiene una función dual, ya que mide tanto signos depresivos como ansiosos (Kraeuter, Guest & Sarnyai, 2019).

La prueba se realizó siguiendo el protocolo descrito de Kraeuter, Guest & Sarnyai (2019), la cual consistió en ingresar a los animales durante 5 minutos en el centro de una caja de lámina de acrílico de color negro de 90 x 90 cm y una altura de 30 cm (Figura 6). Durante los 5 minutos, los animales fueron videograbados y el análisis se realizó con el software Any Maze versión 4.73, donde se extrajo la distancia, velocidad y el tiempo que los animales pasaban en el centro de la arena que representa un cuadrado de 45 cm por lado, también se midió la distancia, velocidad y el tiempo que los animales se mantenían en la periferia de dicho cuadrado central.

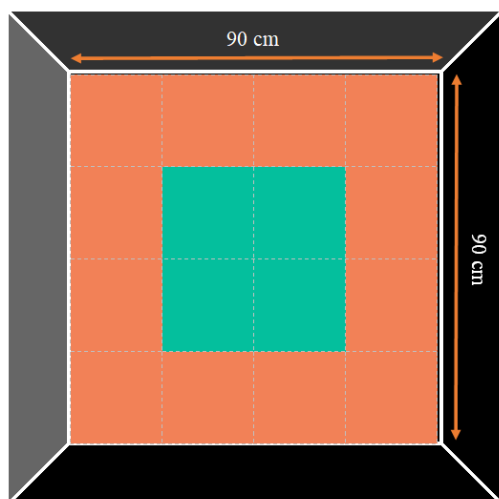


Figura 6. Representación de campo abierto, de color verde se puede visualizar el centro del aparato, mientras de color naranja se observa la periferia.

Laberinto elevado en forma de cruz

La prueba del laberinto en cruz elevado (EPM por sus siglas en inglés) se centra en el efecto ansiolítico en los animales y es similar en cierto grado a la OFT, ya que al igual forma la prueba evalúa el tiempo que pasan los animales explorando en un laberinto donde existen 4 brazos: 2 con paredes y 2 sin paredes. Así, entre mayor tiempo y distancia recorren en los brazos cerrados comparado con el tiempo y distancia recorrido en los brazos abiertos, más ansiosos se encontrarán los animales.

Para esta prueba se utilizó un laberinto de acrílico de color negro, en forma de cruz que constaba de dos brazos cerrados elevados a 50 cm del suelo con paredes de una altura de 40 cm, y dos brazos abiertos con la misma altura de 50 cm, además de unas pestañas de medio centímetro para evitar que el animal cayera, el ancho de los brazos fue de 11 cm, mientras el largo de 50 cm (Figura 7). El procedimiento fue igual al descrito en Komada, Takao, & Miyakawa, (2008), donde se dejaron a los animales en el centro del aparato viendo hacia un brazo abierto y se les dejó explorar el laberinto durante 5 minutos.

La prueba fue videograbada y analizada a través del software Any-Maze versión 4.73, se evaluó el tiempo y la distancia recorrida tanto en brazos abiertos como en brazos cerrados, así mismo se extrajo la frecuencia de entradas a los brazos.

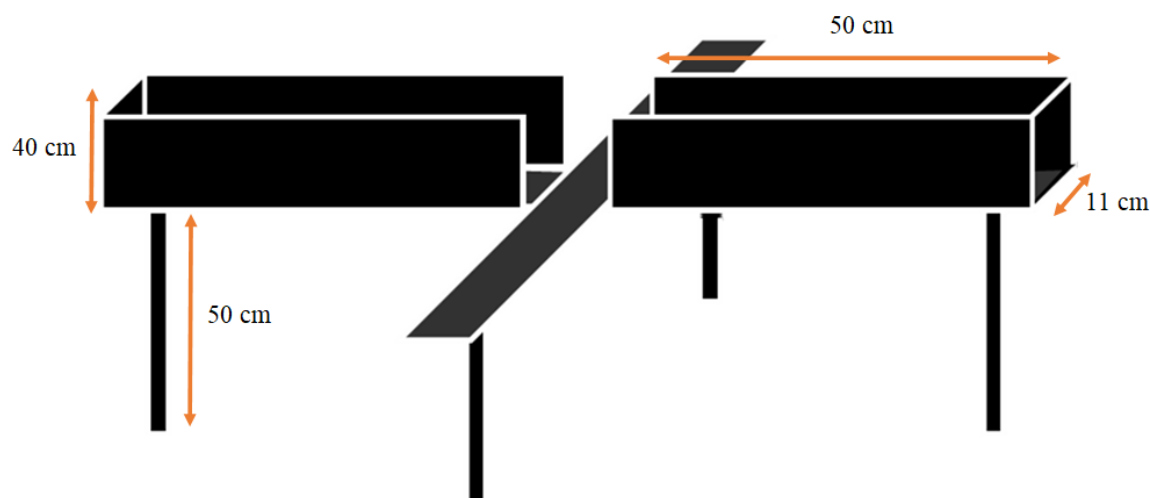


Figura 7. Representación del laberinto elevado en cruz.

Prueba de preferencia a la sacarosa

La prueba de preferencia por la sacarosa (SPT por sus siglas en inglés) se usa comúnmente para evaluar la anhedonia en animales (Liu et al. 2018). La prueba consiste en exponer al animal durante un tiempo definido a 2 soluciones: una solo con agua y otra con una solución de agua y

sacarosa al 1%. Una disminución en la tasa de consumo de sacarosa indicaría un animal deprimido o anhedónico. Es la prueba de comportamiento más adecuada para el modelo de estrés crónico leve (Hu et al., 2017), ya que, en psicopatología, la anhedonia puede reflejar con mayor precisión un déficit conductual caracterizado por reducciones en la frecuencia de actividades placenteras, se ha observado que dichas anomalías están asociadas con disfunción en la actividad dopaminérgica del sistema de recompensa durante el procesamiento de la recompensa (Strauss et al., 2018).

Para la medición de la prueba se mantuvieron a los animales en sus cajas individuales, se necesitaron dos bebederos por caja con capacidad de 50 ml, uno con solución de sacarosa al 1% y otro con agua (Figura 8). La prueba consistió en dejar al animal expuesto a las soluciones durante 3 horas seguidas, donde cada hora se cambió de lado las soluciones para así evitar que los resultados se dieran por una preferencia al lugar. Finalmente se pesaron los bebederos antes y después de finalizar la prueba, posterior a ello se calculó el porcentaje de preferencia a través de la siguiente fórmula: $((CS \div CS + CA) \times 100)$, donde: CS corresponde al consumo de solución de sacarosa obtenido de la diferencia entre el peso inicial del bebedero y su peso final. CA corresponde al consumo de agua obtenido de la diferencia entre el peso inicial del bebedero y su peso final.

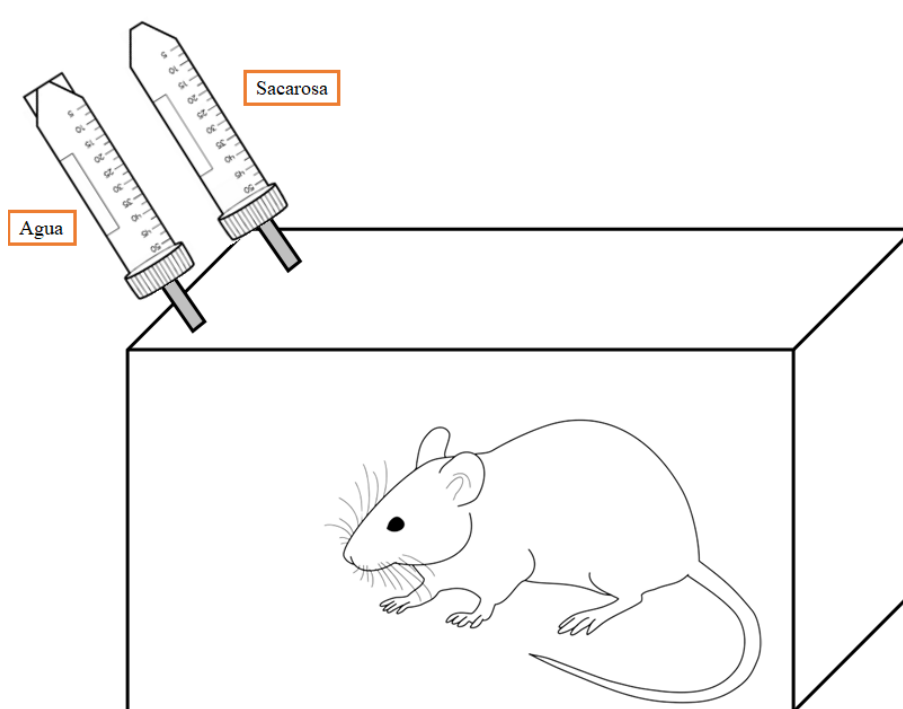


Figura 8. Representación de la prueba de preferencia a la sacarosa.

Modelo de CUMS

El modelo animal de CUMS se realizó con la batería realizada por Arroyo (2021), con los mismos estresores con modificaciones en los tiempos de exposición (Tabla 1), se aplicaron entre 1 a 2 estresores por día de forma aleatoria durante 21 días.

Estresor	Tiempo	Estresor	Tiempo
Restricción de movimiento.	2 h	Luz estroboscópica	12 h
Cuarto frío 4°C.	2 h	Ruido blanco	12 h
Caja inclinada (45°)	6 h	Caja mojada (250ml de agua)	12 h
Agitación - 50 rpm	40 min	Luz continua	24 h

Hacinamiento

4 h

Tabla 1. *Estresores implementados en el modelo CUMS.***EMTr**

La EMTr se administró mediante el sistema EMAGPRO-12 (Figura 9a), descrito por Verdugo-Diaz et al. (2017). El sistema consiste en un capacitor, que se carga a alto voltaje (máximo: 500 ± 50 V) y luego se descarga a través de una bobina en forma de ocho diseñada para uso en roedores de $1,4 \text{ cm} \times 1,4 \text{ cm}$ (Figura 9b), colocada sobre bregma. A su vez la bobina cuenta con un sistema encargado para evitar la elevación de la temperatura. La frecuencia utilizada fue de 10 Hz y se administró durante 10 minutos a 10% de intensidad del aparato, lo cual sería 6000 pulsos a una intensidad de 50mT diarios durante 15 días.

Para la estimulación SHAM o simulada se ocupó una falsa bobina que tiene la misma construcción que las bobinas de estimulación, solo que en la falsa bobina debido a su construcción se puede cancelar el estímulo electromagnético, produciendo sin embargo, el mismo ruido que se produce al encender el aparato en la frecuencia seleccionada.

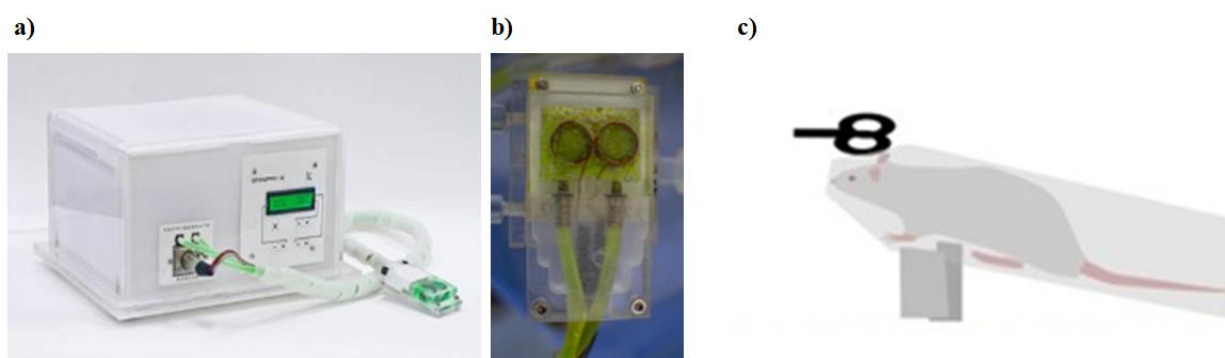


Figura 9. *Estimulador, bobina y representación de restricción. a) Sistema EMAGPRO 12; b) Bobina en forma de ocho para roedor; c) Representación de restrictores utilizados para realizar la estimulación.*

Los animales recibieron EMTr o estimulación simulada (SHAM), comenzando a las 10:00 am, durante 15 días consecutivos comenzando después de la ejecución de las pruebas conductuales después de los 21 días de CUMS. De igual forma para la estimulación se restringió el movimiento de los animales en aparatos construidos de acrílico (Figura 9c).

Inmunohistoquímica

Al terminar el protocolo del EMTr y las pruebas conductuales post estimulación, los sujetos fueron sacrificados con pentobarbital inyectado de forma intraperitoneal a una dosis de 75 mg/kg. Las ratas se perfundieron con solución salina tamponada con fosfato (PBS), luego se fijaron con paraformaldehído al 4 % (PFA; pH 7,4). Después de extraer el tejido se mantuvieron durante 24 hrs en PFA al 4%, posteriormente se colocaron en una solución crioprotectora con sacarosa al 18% durante un día, a continuación, se cambiaron a una solución con sacarosa al 30% durante 48 hrs, enseguida se congelaron en hielo seco y se almacenaron a -80 °C.

Se realizaron cortes coronales a 40µm en un criostato obteniendo hipocampo y corteza mediante flotación. A partir de ello se realizaron lavados con PBS durante 10 minutos 3 veces, posteriormente se incubaron los tejido en buffer de citrato frío por 30 min, para después realizar un lavado con PBS-T (PBS 0.1 M pH 7.4, 0.3% de Tritón X-100) durante 30 minutos, al terminar se incubaron los tejidos en una solución de PBS-T con albúmina de suero Bovino al 1% durante una 1 hora, para finalmente incubar los tejidos a 4° C con anticuerpo de Ms GFAP Monoclonal (sc-33673; Sta. Cruz.) diluido 1:1000 en PBS-T durante toda la noche en agitación. Al día siguiente se realizaron 3 lavados con PBS y se incubó durante dos horas a temperatura ambiente con agitación en el anticuerpo secundario biotinilado Goat anti-Ms (BA-9200; Vector) diluido 1:500 en PBS, a continuación, los cortes se lavaron 3 veces en PBS, para posteriormente agregar el reactivo Vectastain Elite ABC-HRCP por 2 hrs, seguidamente se realizaron 3 lavados con PBS

durante 10 minutos y se visualizaron con el kit DAB (Vector Laboratories). Posteriormente se contra tñero con verde de metilo lo que nos permitió observar los nucleos neuronales y se montaron los tejidos sobre portaobjetos gelatinizados y con cubreobjetos.

Análisis de imágenes

Las imágenes se adquirieron utilizando un microscopio CX31 Olympus equipado con una cámara digital y se analizaron con el software Infinity Analyze ® (versión 6.3.0). Se obtuvieron las fotografías con un objetivo de 10x con un área por campo calculada previamente de 338,000 μm .

Cuantificación de GFAP

Se contaron las células inmunomarcadas con GFAP para corteza y cada subcampo del hipocampo: CA1, CA2, CA3 y giro dentado (DG). Para el recuento de células se utilizó un total de 5 campos aleatorios en cada una de las secciones de tejido seleccionadas de 5 animales por grupo, dando un total de 20 campos analizados por grupo y por sección. Se utilizó una cuadrícula de prueba de 500×500 *píxeles* equivalente a $210\mu\text{m} \times 210\mu\text{m}$, a través del software ImageJ (Figura 10).

Para el análisis, se realizó el conteo a ciego. Sólo se contaron las células portadoras de procesos que mostraban su soma en el plano del área analizada, si no contaban con un soma claro y mínimo 3 procesos no se tomaron en cuenta en el conteo. Posterior a ello se estimó la densidad (número de células positivas de GFAP/ μm^2).

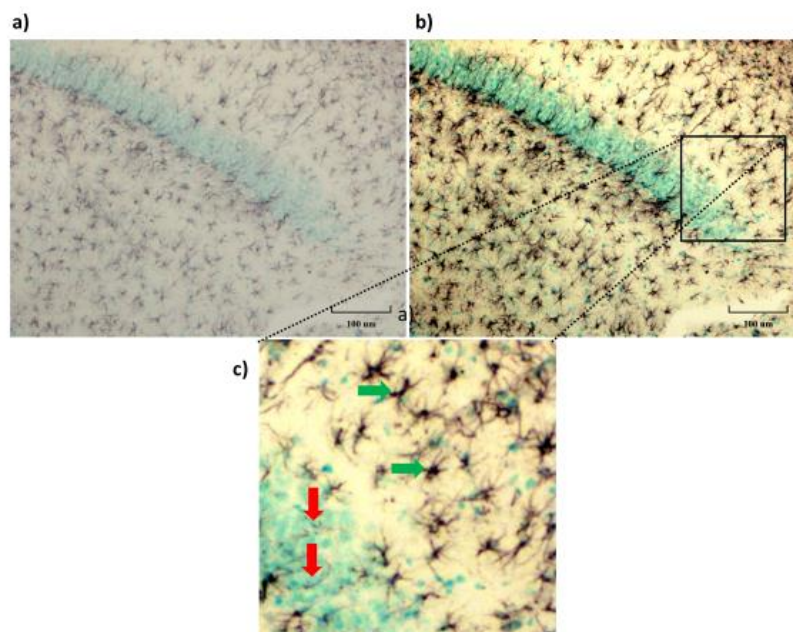


Figura 10. a) Fotomicrografía con microscopio de campo claro a 10x de aumento, b) Procesamiento de la fotografía para poder visualizar de mejor manera los procesos astrocíticos, c) Acercamiento del campo donde las flechas verdes son las células que han sido contadas y las flechas rojas son marcas que no se contabilizaron como células; la marca verde es el colorante de metilo que tiñe núcleos neuronales.

Análisis de datos

Para el análisis estadístico se utilizó el software GraphPrism 9.0.2. A todos los datos se les realizó la prueba Shapiro Wilk para observar si los datos tenían un comportamiento normal, a partir de este resultado si los datos presentan una distribución gaussiana se ocupó una ANOVA-One Way para grupos independiente y una prueba post-hoc de Tukey para observar si existe una diferencia entre grupos en las conductas ya mencionadas y en el conteo de células inmunorreactivas al marcador GFAP. Por otro lado, si los datos resultan tener una distribución no gaussiana se optará por ocupar la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y la prueba post-hoc de Dunn. Así mismo se en algunos casos se realizó la prueba de T de student para grupos independientes o su homóloga no paramétrica la prueba Mann de Whitney.

Resultados

Peso corporal

La medición realizada cada semana de los pesos de los animales (Figura 11) nos mostró que durante la segunda semana del experimento existió una disminución en la ganancia de peso, dicho decremento coincidió en la semana de inicio de la implementación del modelo de CUMS. Durante la tercera semana se observó una disminución drástica en la ganancia de peso, no obstante, para la cuarta semana hubo una recuperación. La quinta semana fue el inicio de los tratamientos; los animales con EMTr mostraron un aumento en la ganancia de peso, contrario a lo sucedido en el grupo SHAM. Durante la sexta semana se encontró una diferencia significativa ya que hubo mayor ganancia de peso en el grupo EMTr a comparación con el grupo SHAM ($p = 0.01$).

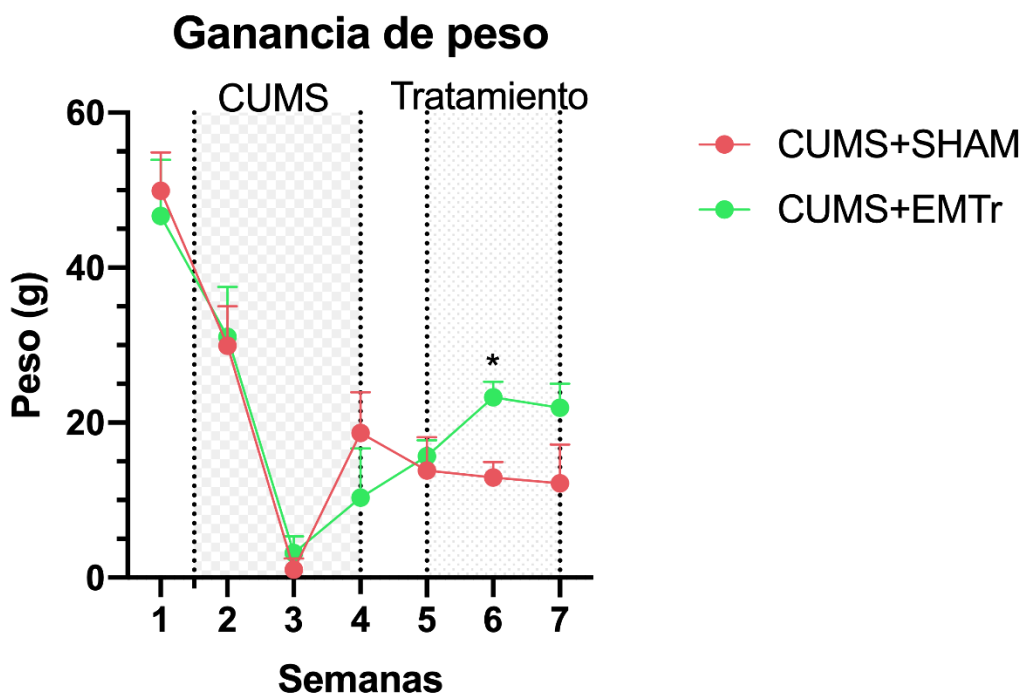


Figura 11. *Ganancia de pesos en ratas sometidas a EMTr después de una exposición de CUMS.* Área con cuadros representa el tiempo en que se expuso al protocolo CUMS; Área con líneas verticales representa el tiempo en que se administraron los distintos tratamientos. CUMS+SHAM ($n=13$), CUMS+EMTr ($n=12$). El periodo de CUMS se realizó entre la semana 2-4. Los

tratamientos administrados ya sea EMTr o SHAM se realizaron de la semana 5-7. $*p < 0.05$. ANOVA de dos vías. Los resultados se presentan como media \pm D.S.

Pruebas conductuales

Campo Abierto

En la prueba de CA cuando se evaluó el tiempo y la distancia que pasaban los animales tanto en la periferia como en el centro de la arena, no se encontró diferencias significativas entre los grupos experimentales (Figura 12).

Cuando se analizó la distancia total recorrida, se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($F_{(3, 70)} = 2.765$, $p = 0.0483$), sin embargo, al realizar el análisis *post-hoc* de Tukey se demostró que no existió diferencia significativa entre grupo (Figura 13a). En forma similar se encontró el mismo resultado en la velocidad promedio (Figura 13b); es decir, se observó una diferencia significativa (Kruskal-Wallis $H(3) = 8.047$, $p = 0.045$ y *post-hoc* de Dunn) entre el grupo SHAM el basal grupo ($p = 0.043$).

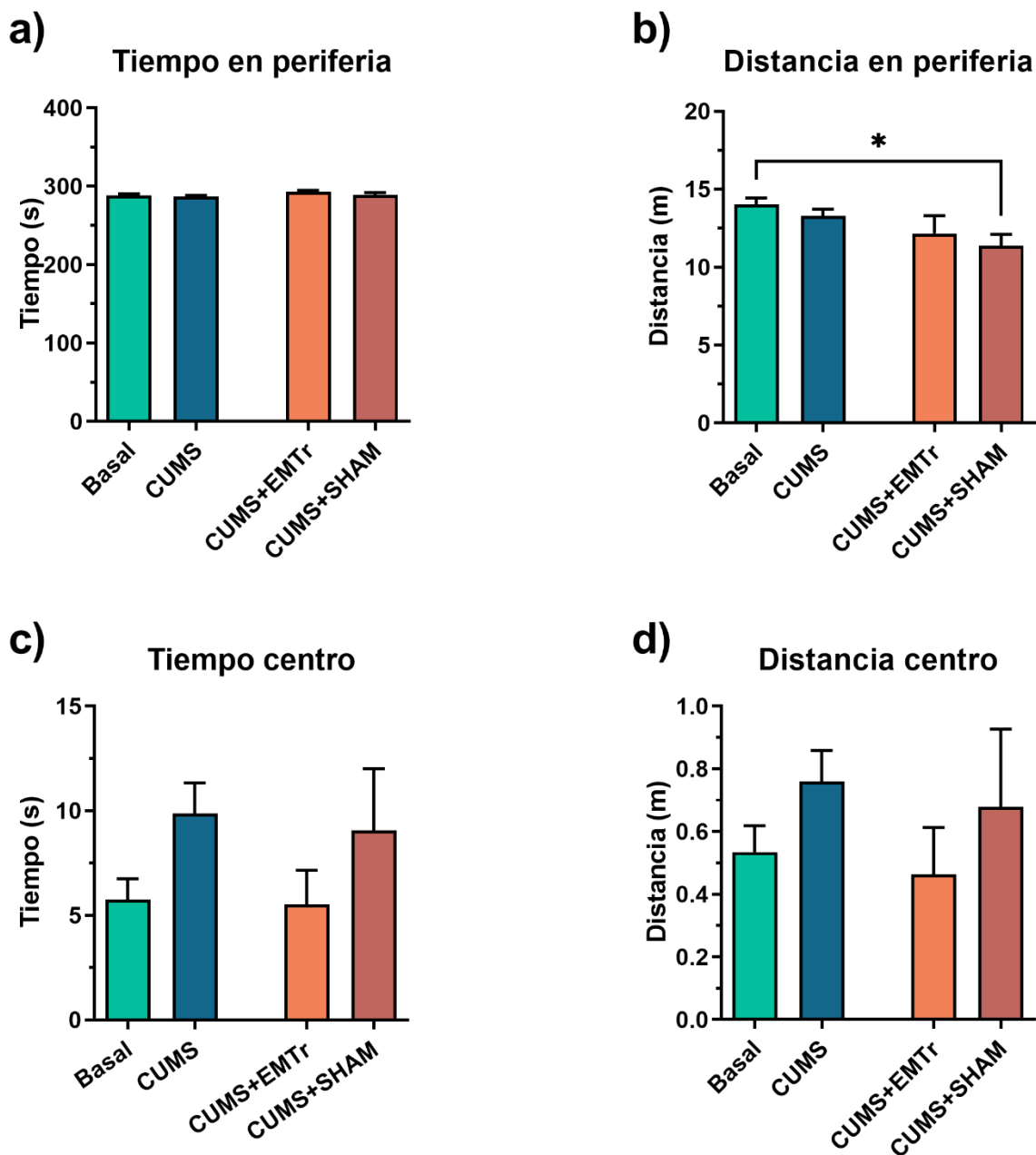


Figura 12. La EMTr no modifica la Prueba de Campo Abierto en ratas sometidas a CUMS. Basal ($n=25$); CUMS ($n=25$, Estrés crónico variable impredecible durante 21 días); CUMS+EMTr ($n=12$); CUMS+SHAM ($n=13$). Kruskal-Wallis y prueba post-hoc de Dunn. Los resultados se presentan como media \pm S.E.M.

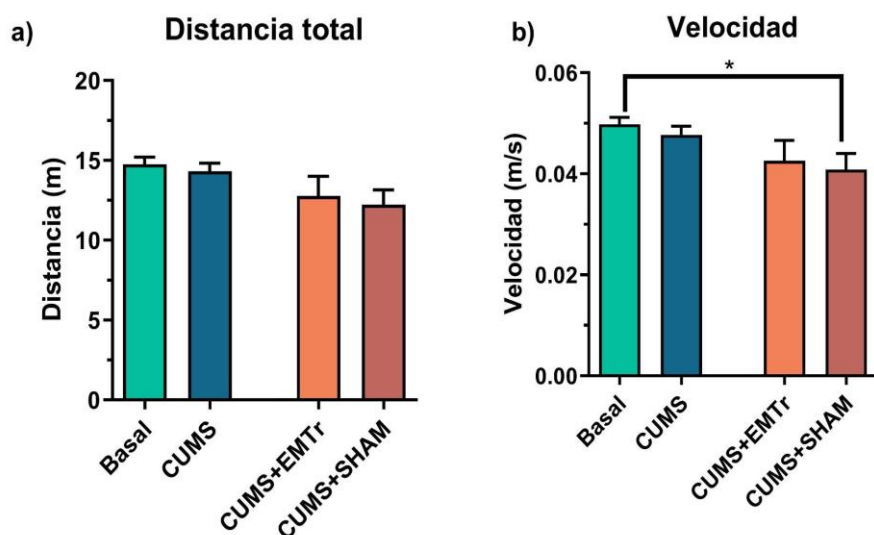


Figura 13. La EMTr modifica la velocidad promedio en ratas sometidas a CUMS. Basal ($n=25$); CUMS ($n=25$, Estrés crónico variable impredecible durante 21 días); CUMS+EMTr ($n=12$); CUMS+SHAM ($n=13$). * $p<0.05$; ** $p<0.01$. ANOVA de una vía y prueba post-hoc de Tukey (a) y Kruskal-Wallis y prueba post-hoc de Dunn (b). Los resultados se presentan como media \pm S.E.M.

Laberinto en Cruz elevado

Al comparar los resultados en la prueba de laberinto en cruz elevado se encontraron algunas diferencias significativas entre los valores basales y los obtenidos al aplicar el CUMS. Específicamente, en el tiempo que pasaban los animales en los brazos cerrados ($F_{(3, 56)} = 3.326$, $p = 0.026$) en la Figura 14b, indicando que después de administrar el protocolo de CUMS los animales se mantenían mayor tiempo en estos brazos ($p = 0.017$). Así mismo en la figura 14e, se muestra una diferencia significativa en el tiempo que pasaban en los brazos abiertos ($F_{(3, 53)} = 3.931$, $p = 0.013$), siendo consistente en la disminución de tiempo que pasaban los animales en los brazos abiertos después del estrés.

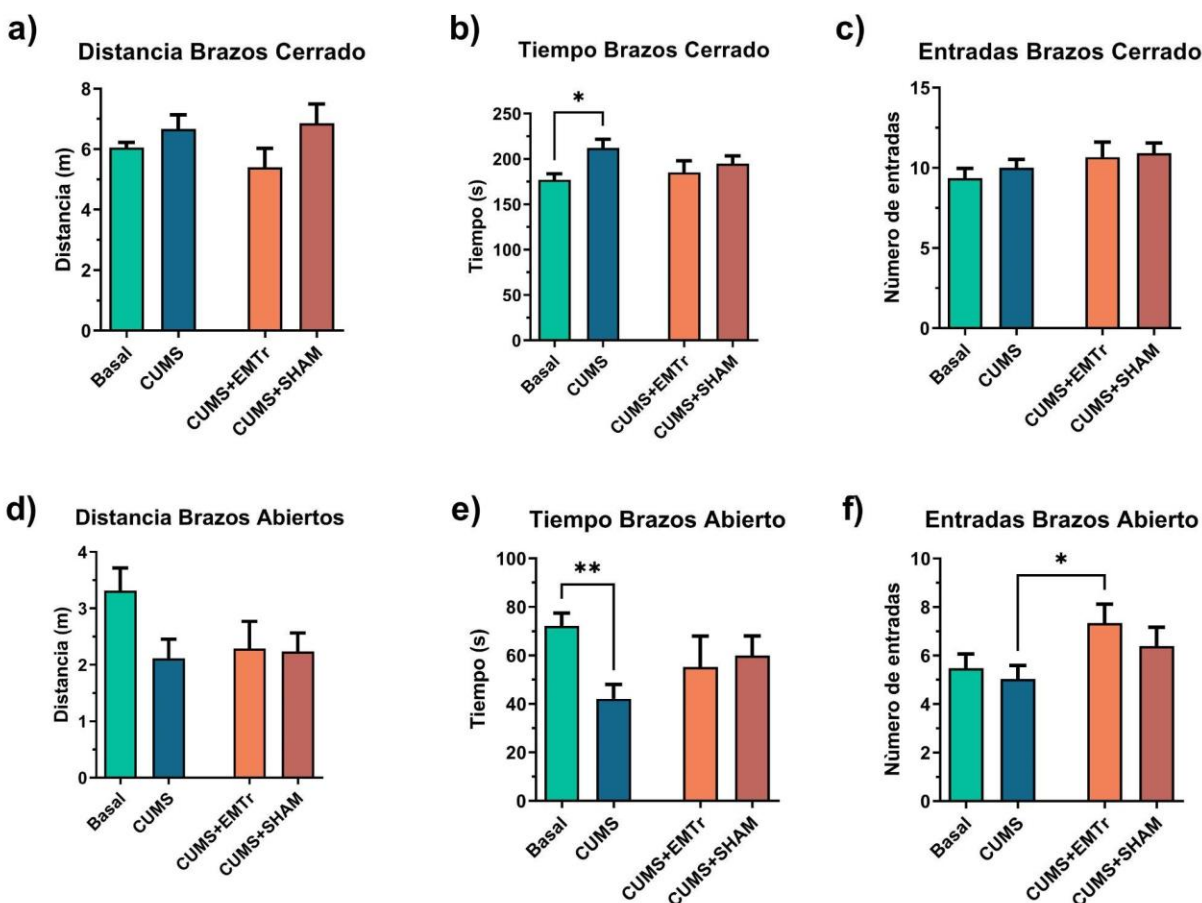


Figura 14. La EMTr incrementó el número de entradas en el brazo abierto en ratas expuestas a CUMS. Basal ($n=25$); CUMS ($n=25$, Estrés crónico variable impredecible durante 21 días); CUMS+EMTr ($n=12$); CUMS+SHAM ($n=13$). * $p<0.05$; ** $p<0.01$. ANOVA de una vía y prueba post-hoc de Tukey (b, d y e) y Kruskal-Wallis y prueba post-hoc de Dunn (a, c y f). Los resultados se presentan como media \pm S.E.M.

Después de los 15 días con EMTr o falsa estimulación, también se observaron algunas diferencias significativas. Así, se observó una diferencia significativa en la entrada a los brazos abiertos después de recibir el tratamiento con EMTr ($H(3) = 8.181, p = 0.042$), encontrándose que después de recibir el tratamiento hubo mayores entradas a los brazos abiertos ($p = 0.0437$) comparado con el grupo CUMS (Figura 14f). En cambio en el grupo SHAM no hubo cambios significativos ($p>0.999$).

Al evaluar la conducta que presentaron los animales en la parte central del laberinto también se observaron algunos cambios. Se pudo observar que los animales tuvieron diferencias en la frecuencia en que ingresaban al centro del aparato, dichas diferencias se pueden apreciar en la figura 15a ($F_{(3, 71)} = 7.83, p < 0.001$). Así mismo se observaron diferencias significativas en el tiempo que los animales pasaban en el centro del aparato ($H(3) = 7.846, p = 0.049$), siendo que los animales que recibieron EMTr mantuvieron un incremento significativo en el tiempo que pasaban en el centro ($p = 0.033$) comparado con el grupo CUMS (Figura 15b).

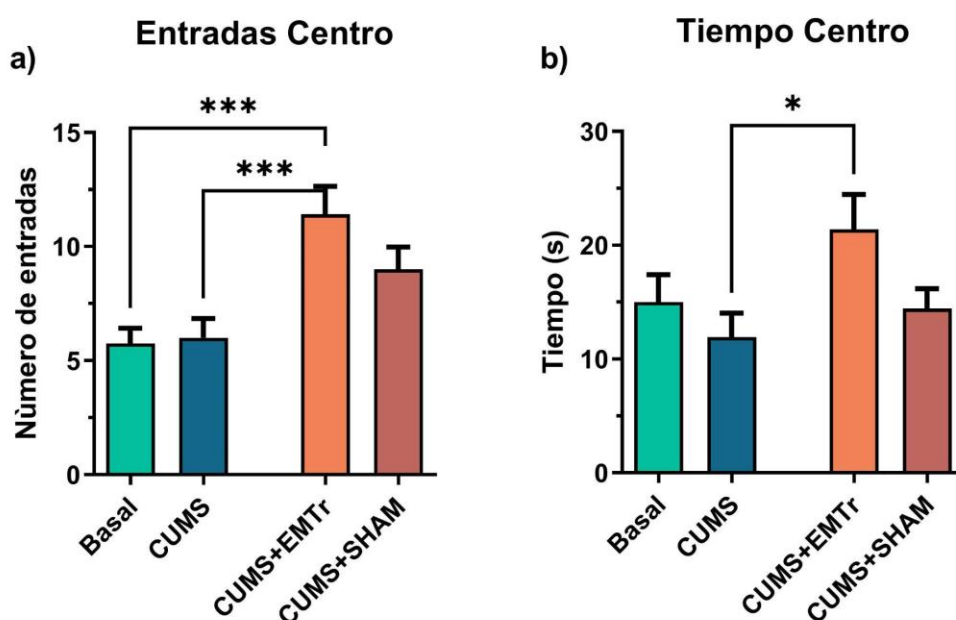


Figura 15. La EMTr incrementa la frecuencia y el tiempo en el centro en Laberinto en Cruz Elevado. Basal ($n=25$); CUMS ($n=25$, Estrés crónico variable impredecible durante 21 días); CUMS+EMTr ($n=12$); CUMS+SHAM ($n=13$). * $p < 0.05$. ANOVA de una vía, post-hoc de Tukey (a y b) y Kruskal-Wallis y prueba post-hoc de Dunn (c). Los resultados se presentan como media \pm S.E.M.

Prueba de nado forzado

En la prueba de nado forzado se midieron los tiempos de duración de 4 conductas; a) el tiempo de inmovilidad que presentaba el animal (Figura 16a), b) tiempo de escalado (Figura 16b),

c) nado (Figura 16c) y d) frecuencia de buzos o sumergimientos (Figura 16d). Se encontraron diferencias significativas en el tiempo en que los animales permanecen inmóviles ($F_{(3, 62)} = 11.16$, $p < 0.0001$). En la figura 16a se observa que después de aplicarles CUMS, los animales presentaban mayor tiempo de inmovilidad ($p < 0.01$), así mismo, la EMTr mostró que era capaz de disminuir el tiempo de inmovilidad que habían presentado después del CUMS ($p = 0.004$). Por otro lado, en el grupo SHAM los animales permanecieron inmóviles por mayor tiempo en comparación con el grupo que recibió EMTr ($p = 0.026$) y con la medición basal ($p = 0.001$).

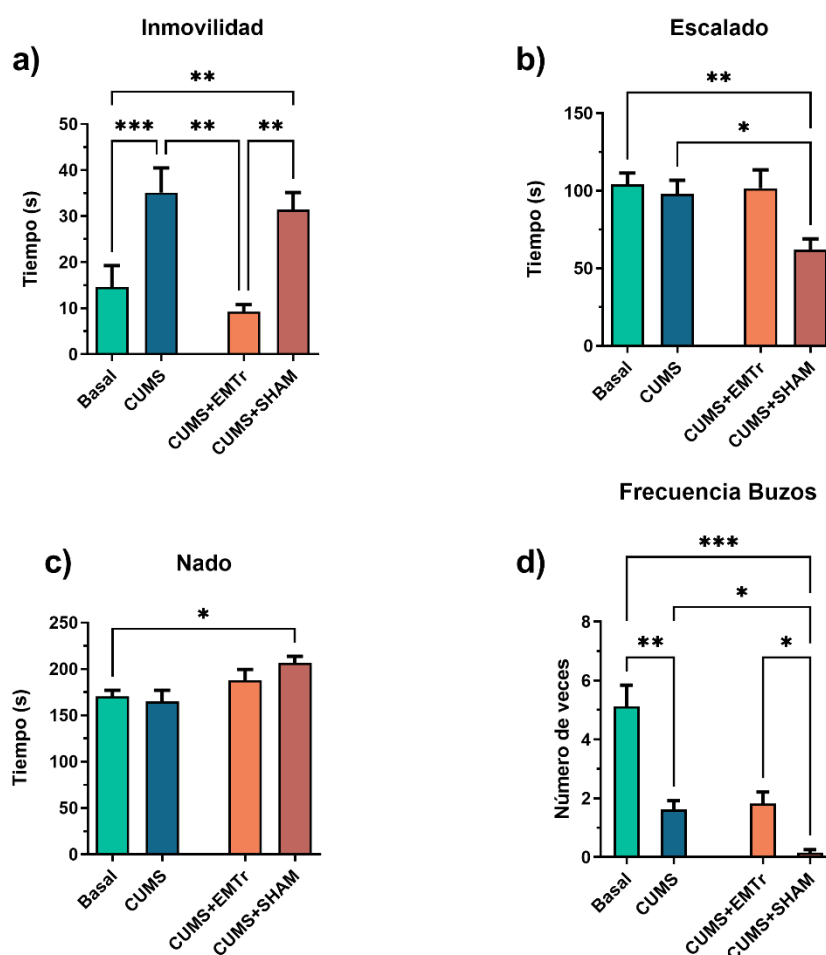


Figura 16. La EMTr disminuye el tiempo de inmovilidad en nado forzado. Basal ($n=25$); CUMS ($n=25$, Estrés crónico variable impredecible durante 21 días); CUMS+EMTr ($n= 12$); CUMS+SHAM ($n=13$). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. ANOVA de una vía y prueba post-hoc de Tukey (b) y Kruskal-Wallis, post-hoc de Dunn (a, c y d). Los resultados se presentan como media \pm S.E.M.

De igual forma se analizó el tiempo que presentaron en la conducta de escalado, en este caso se encontró una diferencia significativa entre los grupos ($F_{(3, 68)} = 4.026, p = 0.0107$). La prueba post-hoc arrojó que el grupo de falsa estimulación mantuvo un menor tiempo de escalamiento en comparación con el grupo basal ($p = 0.008$) (Figura 16b), además el tiempo de escalamiento también fue menor al tiempo que pasaron después aplicarles el estrés ($p = 0.0319$). En cuanto al grupo estimulado se mantuvo en tiempos parecidos a los basales y a los posteriores al CUMS, al realizar la comparación entre el grupo estimulado y el SHAM con la prueba t de student (Figura 17), se encontró que la EMTr mantiene la conducta de escalado ($M = 101.7, SD = 39.61$) mayor que el grupo que recibieron falsa estimulación ($M = 62.03, DS = 25.46$), $t(12) = 2.964, p = 0.003$).

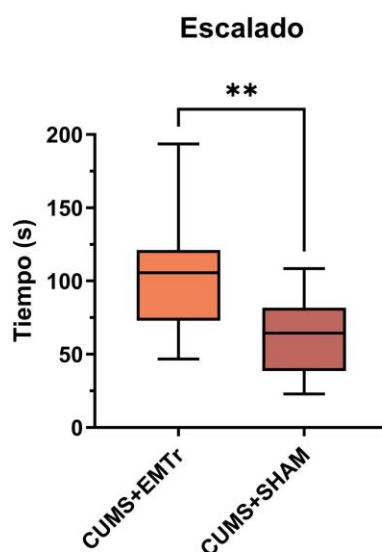


Figura 17. Conducta de escalado EMTr vs. SHAM. EMTr ($n = 12$); SHAM ($n = 13$). $**p < 0.01$. *T de Student para muestras independientes. Los resultados se presentan como media \pm D.S.*

En cuanto el tiempo que se presentó la conducta de nado (Figura 16c), existió una diferencia significativa en la prueba de Kruskal-Wallis ($H(3) = 10.85, p = 0.012$), si bien no hubo diferencia

entre la medición basal y después de que los animales recibieron CUMS ($p > 0.999$), si hubo un aumento en el tiempo de nado en el grupo SHAM comparado con el basal ($p = 0.010$).

En cuanto a la conducta de buzos (Figura 16d), se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de dicha conducta ($H(3) = 36.61, p < 0.01$), se observó una disminución notable en la frecuencia de la conducta después de aplicarle el estrés ($p = 0.004$); Sin embargo, la EMTr no logró aumentar la frecuencia, pero si logro mantenerla en comparación con el grupo SHAM que existió una menor frecuencia ($p = 0.0154$).

Prueba de preferencia a la sacarosa

En la figura 18a se muestran los porcentajes de cambio respecto a los valores basales. El modelo de CUMS disminuye 16.93% la preferencia de solución de sacarosa, lo cual fue significativo ($p = 0.02$). Después del tratamiento con EMTr sube un 6.9%, aunque sin una diferencia significativa y tampoco en el grupo de falsa estimulación el porcentaje de cambio fue significativo respecto a los valores basales (-5.4%). El análisis del porcentaje de cambio de ambos grupos experimentales respecto al valor obtenido antes de iniciar los tratamientos (Figura 18b) solo fue significativo en el grupo con EMTr ($p = 0.04$).

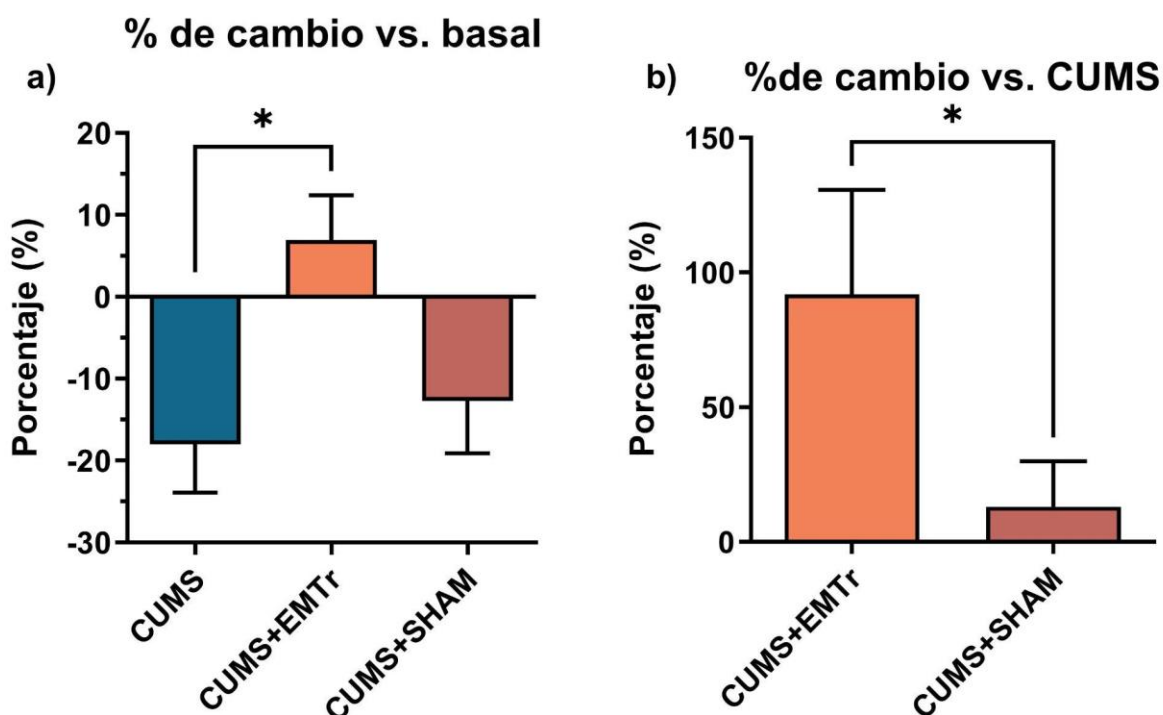


Figura 18. La EMTr revierte la anhedonia en ratas sometidas a CUMS. CUMS ($n=25$, Estrés crónico variable impredecible durante 21 días); CUMS+EMTr ($n= 12$); CUMS+SHAM ($n=13$). * $p<0.05$ ANOVA de una vía y prueba post-hoc de Tukey (a), Prueba Mann de Whiney (b). Los resultados se presentan como media \pm S.E.M.

Inmunohistoquímica a GFAP

Se analizó el número de células positivas para GFAP, tanto en corteza motora como en hipocampo (CA1, CA2, CA3 y giro dentado o DG) y el análisis se realizó por medio de una prueba *T de Student* para muestras independientes. En la Figura 19a se observa que no existió una diferencia significativa en la expresión de GFAP en corteza. En cuanto a las diferentes áreas del hipocampo, se puede apreciar en la Figura 19, que existió diferencias significativas en CA1 (Figura 19b; $p = 0<.001$), CA2 (Figura 19c; $p = 0.021$), CA3 (Figura 19d; $p = 0<.001$), y en Giro dentado (Figura 19e; $p = 0.001$), mostrando mayor número y densidad de células positivas a GFAP en el grupo que recibió estimulación magnética a comparación del grupo SHAM o de falsa estimulación.

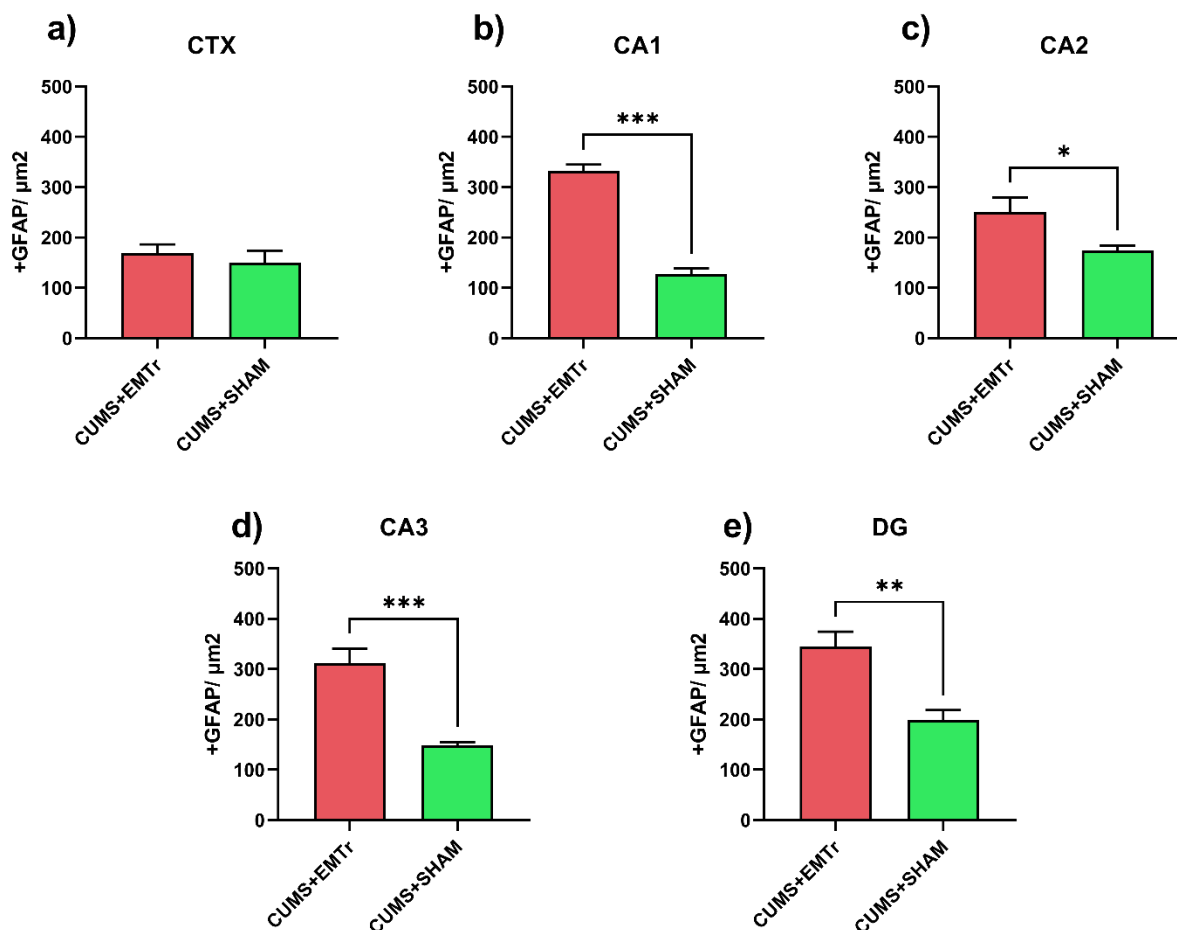


Figura 19. Diferencia en el número de células positivas a GFAP en corteza y áreas de hipocampo. CTX= Corteza motora ($n=5$); CA1,2,3= Cuerpos de Amon ($n=5$); DG= Giro dentado ($n=5$). * $p<0.05$; ** $p<0.01$. T de Student para muestras independientes.

Discusión

El modelo CUMS indujo conductas ansiosas y disminución en el crecimiento medido a través del aumento del peso corporal.

Al momento de implementar el modelo de CUMS en las ratas se observó una disminución en el aumento de peso corporal (Figura 11). Se ha observado que el peso corporal reducido en grupos expuestos a CUMS puede considerarse como un marcador de carga de estrés suficiente y capaz de inducir anhedonia en roedores (Hu et al., 2017a; Strekalova et al., 2011, 2022). Tomando

en cuenta estos reportes, consideramos que el modelo de CUMS utilizado es adecuado ya que nuestros resultados muestran una disminución en el aumento de peso de las ratas.

Efecto del CUMS en conductas ansiosas.

En la prueba de campo abierto no existió una diferencia en el comportamiento de los animales, de hecho parece haber una tendencia contraria a la esperada en esta prueba, debido a que después del CUMS los animales presentaron mayor tiempo en el centro (Figura 12c), estos resultados fueron parecidos a los reportados en Li y colaboradores (2010), donde observaron que las ratas expuesta a CUMS presentaban diferencias en la locomoción así como en el tiempo y la frecuencia de entradas al centro en la prueba de campo abierto.

Por otro lado, en la prueba de laberinto en cruz elevado se encontró que después de aplicarles el protocolo de CUMS, los animales presentaban mayor tiempo en los brazos cerrados y por ende menor tiempo en los brazos abiertos, demostrando que el protocolo de CUMS es capaz de inducir conductas de tipo ansiosas en dicha prueba (Hu et al., 2017b).

La inconsistencia en cuanto a las pruebas conductuales que evalúan sintomatologías tipo ansiosas han sido una de las limitaciones que se ha observado en el modelo de CUMS, si bien se esperaría una inhibición conductual en este tipo de pruebas, se ha observado que en algunos casos llega a presentarse una hiperlocomoción, la interpretación de los resultados en estas pruebas conductuales han sido confusas debido a la gran cantidad de variables que podrían estar influyendo como por ejemplo: la cantidad de luxes en la que se deben de realizar las pruebas, la experiencia del investigador al manipular el animal, la hora de ejecución de la prueba, etc. (Hu et al., 2017b; Y. Li et al., 2010; Strekalova et al., 2011, 2022).

Al tratar a los animales con EMTr, se observó que el tratamiento fue capaz de aumentar la entrada a los brazos abiertos en la prueba de laberinto en cruz en comparación al grupo SHAM, no obstante, no existió alguna otra diferencia significativa en esta prueba.

Si bien el efecto ansiolítico es algo que se ha tratado de estudiar al aplicar EMTr se ha descubierto en algunos estudios, que la estimulación magnética puede aumentar la frecuencia en que los animales entran a los brazos abiertos (Kanno et al., 2003; S. Wang et al., 2019; Yang et al., 2019). Sin embargo, existe una discordancia entre estudios ya que se ha visto en otros estudios que el EMTr no ha sido capaz de disminuir conductas de tipo ansiosas en ratas macho (Cambiaghi et al., 2021; Hedges et al., 2005; Hennessy et al., 2022; Keck et al., 2000). Estos datos paradójicos en cierta parte se explican por las diferentes configuraciones con las que se administra la estimulación magnética como la frecuencia utilizada, la intensidad y el tiempo de exposición (Luan et al., 2020).

El modelo CUMS indujo sintomatología de tipo depresiva y la EMTr logró atenuarla

Observamos que la aplicación de los estresores durante 21 días fue capaz de aumentar el tiempo que los animales pasaban inmóviles en la prueba de nado forzado, así mismo otro tipo de conductas como el tiempo de lucha o escalado disminuyó.

La prueba de nado forzado evalúa el tiempo en que el animal permanece inmóvil, esta conducta se ha presentado como un signo característico en modelos de roedores deprimidos (Castagné et al., 2011). Porsolt (1977), denominó a la conducta de inmovilidad mostrada por los animales como desesperanza aprendida. Posteriormente se descubrió que la inmovilidad podía reducirse mediante una amplia gama de fármacos antidepresivos clínicamente activos. Sin embargo, existe una discusión aún vigente si es que esta prueba realmente mide desesperanza o cuestiones motivacionales del animal o la respuesta de inmovilidad más bien es una conducta

adaptativa y de afrontamiento al estrés, llevando a denominar las diferentes conductas presentadas en la prueba en dos clasificaciones, las conductas pasivas (inmovilidad y nado) y conductas activas (escalado y buceo), la presencia de dichas conductas podrían revelar: (i) la calidad de la memoria sobre la experiencia previa con la situación; y (ii) los intentos perseverantes de escapar y que estos factores pueden ser diferentes entre sujetos (Armario, 2021).

Por otro lado, el protocolo de CUMS ha mostrado como característica importante el aumento en el tiempo de inmovilidad o conductas pasivas en dicha prueba (Fan et al., 2018; Hao et al., 2019; S. X. Li et al., 2018; Y. L. Wang et al., 2018), así mismo, nuestros resultados demuestran que además logra disminuir el tiempo y la frecuencia de conductas activas.

Por otro lado, se demostró que la EMTr a 10 Hz y 10% de intensidad logra mejorar los síntomas depresivos medidos por la prueba de nado forzado, pasando menor tiempo de inmovilidad a comparación de los animales que no reciben estimulación magnética, la EMTr ha demostrado revertir el tiempo de inmovilidad en esta prueba similar a distintos fármacos (Chen et al., 2015; Fang & Wang, 2018; Feng et al., 2012; Tian et al., 2020; Wang et al., 2014).

Así mismo el protocolo CUMS utilizado es capaz de disminuir el porcentaje de preferencia a la sacarosa después de 21 días de la administración de distintos estresores, esta disminución se ha determinado como anhedonia; uno de los principales síntomas del TDM, al observar nuestros resultados inferimos que las ratas anhedónicas no presentan sintomatología ansiosa clara, debido a la incongruencia encontrada en la prueba de laberinto en cruz elevado y campo abierto. Li et al., (2010), observó una independencia entre los niveles de ansiedad en pruebas como campo abierto o laberinto en cruz y la presencia de anhedonia en ratas.

Los resultados demuestran que el tratamiento administrado con campos magnéticos es capaz de aumentar el consumo relativo de sacarosa y por ello mejorar la anhedonia a comparación del grupo de falsa estimulación (Chen et al., 2015; Fang & Wang, 2018; Feng et al., 2012; Kim et al., 2014; Luan et al., 2020; Tian et al., 2020; Wang et al., 2014; L. Zhao et al., 2018)

La EMTr aumenta el número de células positivas a GFAP

Nuestros resultados muestran que después de aplicar el protocolo de CUMS seguido de la estimulación magnética transcraneal repetitiva a 10 Hz es capaz de aumentar el número de células positivas a GFAP a comparación del grupo SHAM. Se ha observado que los astrocitos son células importantes para mantener la homeostasis en SN, en condiciones patológicas como en el TDM se ha observado una desregulación en la densidad y número de astrocitos en pacientes post-mortem, esto pudiera estar contribuyendo con la aparición de los síntomas depresivos (Cobb et al., 2016; Rubinow et al., 2016; Y. F. Zhao et al., 2022).

En estudios con animales, varios tipos de estrés también han llevado a una reducción en el número de astrocitos, incluidos el hipocampo, la corteza frontal y la amígdala (Banar et al., 2010; Czéh et al., 2006; Imbe et al., 2012; Yan et al., 2022). De manera consistente, nuestros resultados demostraron que CUMS redujo significativamente los niveles de astrocitos en el hipocampo. Esto podría deberse ya que la exposición al estrés, los astrocitos se activan y responden de manera crónica llevando consigo un deterioro de sus funciones principales, incluido el calcio intracelular y la regulación iónica extracelular, la comunicación celular basada en uniones comunicantes y la regulación de la liberación y captación de neurotransmisores/gliotransmisores, la suma de estas disfunciones lleva consigo mayor neurotoxicidad por el desbalance de neurotransmisores como el glutamato y el GABA (Yao et

al., 2023; Y. F. Zhao et al., 2022), además el estrés crónico disminuye la liberación de factores tróficos, que a consecuencia de este fenómeno hay una reducción en la supervivencia y diferenciación de células madre, neurogénesis y plasticidad (Alves et al., 2018; Du Preez et al., 2021). Por lo tanto, se especula que la sensibilidad regional al estrés y el efecto del estrés en la formación de astrocitos podrían explicar la disminución en el número de astrocitos en la región CA1 y DG en ratas después de la intervención estrés crónico. Así mismo la microglía podría estar contribuyendo con la disfuncionalidad de los astrocitos, debido a que en estrés crónico la microglía toma un fenotipo M1 el cual secreta citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α , CRP y PGE2 que lleva a una activación astrocítica generando hipertrofia, además de una extensión de sus procesos y finalmente llegando a una respuesta neurotóxica que culmina en la apoptosis celular (Banasr et al., 2010; Dean & Keshavan, 2017; Hong et al., 2022).

Nuestros resultados muestran que la EMTr es capaz de restaurar la regulación negativa de astrocitos en corteza e hipocampo, estos resultados sugieren que la mejoría del número de los astrocitos podría contribuir en el alivio de síntomas depresivos en ratas macho. Los resultados mostrados podrían deberse ya que la EMTr a 10 Hz es capaz de inhibir los astrocitos neurotóxicos a la vez podría prevenir la polarización M1 de la microglía (Hong et al., 2022). Al igual los astrocitos también pueden ejercer efectos antidepresivos probablemente mediante la liberación de factores protectores, por ejemplo, durante el ejercicio físico (Li et al., 2021). Precisamente la EMTr tiene la capacidad de aumentar la liberación de factores tróficos como el BDNF, GDNF, VEGF, etc., esenciales para la supervivencia, diferenciación, neurogénesis y plasticidad (Cullen & Young, 2016; Feng et al., 2021; Stevanovic et al., 2019). En depresión se ha observado que el BDNF juega un papel importante en la fisiopatología (Dean & Keshavan, 2017).

En conjunto la EMTr podría estar ayudando a disminuir la inflamación, además de la liberación de factores tróficos que llevaría a una regulación en los astrocitos revirtiendo las disfunciones que el modelo CUMS induce en este tipo celular, manteniendo así una homeostasis y una regulación de neurotransmisores en el hipocampo y corteza, áreas implicadas en la respuesta al estrés y a los síntomas depresivos (Tian et al., 2020; Yan et al., 2022).

Limitaciones

Las inconsistencias en las pruebas conductuales en conductas tipo ansiosas han sido una limitante para este estudio, ya que, con los resultados obtenidos no se puede afirmar con certeza que la estimulación tenga influencia en este tipo de conductas. Así mismo para mayor rigor y validez es necesario la inclusión de grupos controles para disminuir la incertidumbre y obtener mayor certeza de que los efectos conductuales y celulares observados en el estudio son debido a la misma estimulación magnética y no por otra variable.

Si bien en el presente estudio se ha demostrado que la EMTr tiene una influencia en la expresión de GFAP y con ello la mejoría de la sintomatología depresiva, no se puede decir con certeza el mecanismo por el cual los astrocitos mejoran.

Se requieren estudios que observen la interacción que los astrocitos mantienen con otro tipo de células y determinar cómo es que los astrocitos logran mejorar la sintomatología depresiva.

Conclusiones

El modelo CUMS utilizado ha inducido conductas de tipo depresivas y no así de tipo ansiosas debido a la confiabilidad de las pruebas, al aplicar EMTr a 10 Hz durante 15 días se ha revertido las conductas tipo depresivas como la anhedonia y el tiempo de movilidad en la prueba

de nado forzado, la densidad o el número de células positivas a GFAP tanto en corteza como en hipocampo han aumentado en comparación con el grupo SHAM, mostrando que existe una respuesta al aplicar campos magnéticos en el cerebro y que los astrocitos son una ventana terapéutica, mientras tanto los mecanismos de acción por el cual los astrocitos estarían contribuyendo a la mejoría de los síntomas depresivos no sé sabe con exactitud ya que los astrocitos responden según el ambiente y otro tipo de células como la microglía estuviera interactuando para obtener mejoras en los síntomas depresivos, para próximos estudios se recomienda tomar en cuenta otro tipo de linajes celulares y comprobar las vías tanto *in vivo* como *in vitro* por los cuales la EMTr podría estar actuando.

Referencias

- Alves, N. D., Patrício, P., Correia, J. S., Mateus-Pinheiro, A., Machado-Santos, A. R., Loureiro-Campos, E., Morais, M., Bessa, J. M., Sousa, N., & Pinto, L. (2018). Chronic stress targets adult neurogenesis preferentially in the suprapyramidal blade of the rat dorsal dentate gyrus. *Brain Structure and Function*, 223(1), 415–428. <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1490-3>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. <https://www.psychiatry.org/psychiatrists/practice/dsm>
- Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., & Haydon, P. G. (1999). Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neuroscience*, 22(5), 208–215. [https://doi.org/doi:10.1016/s0166-2236\(98\)01349-6](https://doi.org/doi:10.1016/s0166-2236(98)01349-6)
- Armario, A. (2021). The forced swim test: Historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 128, pp. 74–86). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.014>
- Arroyo, J. (2021). *Efecto antidepresivo de la estimulación magnética transcraneal repetitiva en el modelo animal de estrés crónico impredecible en rata* [Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México]. https://tesiunam.dgb.unam.mx:443/F/E35JFK5K67B3P33XLMHV5GJX6YG9C2LPSN832BR6JJRRB2BP85-07412?func=service&doc_library=TES01&doc_number=000820522&line_number=0001&func_code=WEB-FULL&service_type=MEDIA%22
- Antoniuk, S., Bijata, M., Ponimaskin, E., & Wlodarczyk, J. (2019). Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 99, 101–116. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.12.002>
- Banasr, M., Chowdhury, G. M. I., Terwilliger, R., Newton, S. S., Duman, R. S., Behar, K. L., & Sanacora, G. (2010). Glial pathology in an animal model of depression: Reversal of stress-induced cellular, metabolic and behavioral deficits by the glutamate-modulating drug riluzole. *Molecular Psychiatry*, 15(5), 501–511. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.106>

- Belmaker, R. H., & Agam, G. (2008). Major Depressive Disorder. *The New England Journal of Medicine*, 358, 55–68. <https://doi.org/10.1056/NEJMra073096>
- Cacace, F., Mineo, D., Viscomi, M. T., Latagliata, E. C., Mancini, M., Sasso, V., Vannelli, A., Pascucci, T., Pendolino, V., Marcello, E., Pelucchi, S., Puglisi-Allegra, S., Molinari, M., Picconi, B., Calabresi, P., & Ghiglieri, V. (2017). Intermittent theta-burst stimulation rescues dopamine-dependent corticostriatal synaptic plasticity and motor behavior in experimental parkinsonism: Possible role of glial activity. *Movement Disorders*, 32(7), 1035–1046. <https://doi.org/10.1002/mds.26982>
- Cambiaghi, M., Cherchi, L., Masin, L., Infortuna, C., Briski, N., Caviasco, C., Hazaveh, S., Han, Z., Buffelli, M., & Battaglia, F. (2021). High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation enhances layer II/III morphological dendritic plasticity in mouse primary motor cortex. *Behavioural Brain Research*, 410. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113352>
- Carnevali, L., Montano, N., Tobaldini, E., Thayer, J. F., & Sgoifo, A. (2020). The contagion of social defeat stress: Insights from rodent studies. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 111, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.011>
- Castagné, V., Moser, P., Roux, S., & Porsolt, R. D. (2011). Rodent models of depression: Forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. *Current Protocols in Neuroscience*, SUPPL.55. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0810as55>
- Cerecero-García, D., Macías-González, F., Arámburo-Muro, T., & Bautista-Arredondo, S. (2020). Síntomas depresivos y cobertura de diagnóstico y tratamiento de depresión en población mexicana. *Salud Pública De México*, 62(6, Nov-Dic), 840-850. <https://doi.org/10.21149/11558>
- Chen, Y. H., Zhang, R. G., Xue, F., Wang, H. N., Chen, Y. C., Hu, G. T., Peng, Y., Peng, Z. W., & Tan, Q. R. (2015). Quetiapine and repetitive transcranial magnetic stimulation ameliorate depression-like behaviors and up-regulate the proliferation of hippocampal-derived neural stem cells in a rat model of depression: The involvement of the BDNF/ERK signal pathway. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 136, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.07.005>

- Cobb, J. A., O'Neill, K., Milner, J., Mahajan, G. J., Lawrence, T. J., May, W. L., Miguel-Hidalgo, J., Rajkowska, G., & Stockmeier, C. A. (2016). Density of GFAP-immunoreactive astrocytes is decreased in left hippocampi in major depressive disorder. *Neuroscience*, *316*, 209–220. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.044>
- COVID-19 Mental Disorders Collaborators (2021). Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. *Lancet* (London, England), *398*(10312), 1700–1712. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02143-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02143-7)
- Cruz-Pereira, J. S., Rea, K., Nolan, Y. M., O'leary, O. F., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2019). *Depression's Unholy Trinity: Dysregulated Stress, Immunity, and the Microbiome*. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-122216>
- Cullen, C. L., & Young, K. M. (2016). How does transcranial magnetic stimulation influence glial cells in the central nervous system? In *Frontiers in Neural Circuits* (Vol. 10, Issue APR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fncir.2016.00026>
- Czéh, B., Simon, M., Schmelting, B., Hiemke, C., & Fuchs, E. (2006). Astroglial plasticity in the hippocampus is affected by chronic psychosocial stress and concomitant fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology*, *31*(8), 1616–1626. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300982>
- Dean, J., & Keshavan, M. (2017). The neurobiology of depression: An integrated view. In *Asian Journal of Psychiatry* (Vol. 27, pp. 101–111). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2017.01.025>
- Demorrow, S. (2018). Role of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in health and disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 19, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms19040986>
- Ding, Y., & Dai, J. (2019). Advance in Stress for Depressive Disorder. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1180, pp. 147–178). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9271-0_8
- Dossi, E., Vasile, F., & Rouach, N. (2018). Human astrocytes in the diseased brain. *Brain research bulletin*, *136*, 139–156. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.02.001>

- Duffau H. (2006). Brain plasticity: from pathophysiological mechanisms to therapeutic applications. *Journal of clinical neuroscience: official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 13(9), 885–897. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2005.11.045>
- Du Preez, A., Onorato, D., Eiben, I., Musaelyan, K., Egeland, M., Zunszain, P. A., Fernandes, C., Thuret, S., & Pariante, C. M. (2021). Chronic stress followed by social isolation promotes depressive-like behaviour, alters microglial and astrocyte biology and reduces hippocampal neurogenesis in male mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 91, 24–47. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.07.015>
- Escartin, C., Galea, E., Lakatos, A., O'Callaghan, J. P., Petzold, G. C., Serrano-Pozo, A., Steinhäuser, C., Volterra, A., Carmignoto, G., Agarwal, A., Allen, N. J., Araque, A., Barbeito, L., Barzilai, A., Bergles, D. E., Bonvento, G., Butt, A. M., Chen, W. T., Cohen-Salmon, M., Cunningham, C., Verkhratsky, A. (2021). Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nature neuroscience*, 24(3), 312–325. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00783-4>
- Evans-Lacko, S., Aguilar-Gaxiola, S., Al-Hamzawi, A., Alonso, J., Benjet, C., Bruffaerts, R., Chiu, W. T., Florescu, S., De Girolamo, G., Gureje, O., Haro, J. M., He, Y., Hu, C., Karam, E. G., Kawakami, N., Lee, S., Lund, C., Kovess-Masfety, V., Levinson, D., ... Wojtyniak, B. (2018). Socio-economic variations in the mental health treatment gap for people with anxiety, mood, and substance use disorders: Results from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. *Psychological Medicine*, 48(9), 1560–1571. <https://doi.org/10.1017/S0033291717003336>
- Fan, C., Song, Q., Wang, P., Li, Y., Yang, M., & Yu, S. Y. (2018). Neuroprotective Effects of Ginsenoside-Rg1 Against Depression-Like Behaviors via Suppressing Glial Activation, Synaptic Deficits, and Neuronal Apoptosis in Rats. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02889>
- Fang, G., & Wang, Y. (2018). Effects of rTMS on Hippocampal Endocannabinoids and Depressive-like Behaviors in Adolescent Rats. *Neurochemical Research*, 43(9), 1756–1765. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2591-y>
- Farhy-Tselnicker, I., & Allen, N. J. (2018). Astrocytes, neurons, synapses: A tripartite view on cortical circuit development. In *Neural Development* (Vol. 13, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13064-018-0104-y>

- Feng, S. fang, Shi, T. yao, Fan-Yang, Wang, W. ning, Chen, Y. chun, & Tan, Q. rong. (2012). Long-lasting effects of chronic rTMS to treat chronic rodent model of depression. *Behavioural Brain Research*, 232(1), 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.04.019>
- Feng, S., Wang, S., Sun, S., Su, H., & Zhang, L. (2021). Effects of combination treatment with transcranial magnetic stimulation and bone marrow mesenchymal stem cell transplantation or raf inhibition on spinal cord injury in rats. *Molecular Medicine Reports*, 23. <https://doi.org/10.3892/MMR.2021.11934>
- Fine, R. E. (2019). Glial cells, the myelinated axon, and the blood-brain barrier. In *Receptors in the Evolution and Development of the Brain* (pp. 77–94). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811012-6.00006-6>
- Food and Drug Administration. (2011). Class II special controls guidance document: repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) Systems—Guidance for Industry and FDA Staff. US Department of Health and Human Service.
- Fujiki, M., & Steward, O. (1997). High frequency transcranial magnetic stimulation mimics the effects of ECS in upregulating astroglial gene expression in the murine CNS. In *Molecular Brain Research* (Vol. 44).
- GBD 2019 Mental Disorders Collaborators. (2022). Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Psychiatry*, 9(2), 137–150. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(21\)00395-3](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(21)00395-3)
- Guo, J., Qiu, T., Wang, L., Shi, L., Ai, M., Xia, Z., Peng, Z., Zheng, A., Li, X., & Kuang, L. (2022). Microglia Loss and Astrocyte Activation Cause Dynamic Changes in Hippocampal [18F]DPA-714 Uptake in Mouse Models of Depression. *Frontiers in cellular neuroscience*, 16, 802192. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.802192>
- Hao, Y., Ge, H., Sun, M., & Gao, Y. (2019). Selecting an Appropriate Animal Model of Depression. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4827. <https://doi.org/10.3390/ijms20194827>
- Harro J. (2019). Animal models of depression: pros and cons. *Cell and tissue research*, 377(1), 5–20. <https://doi.org/10.1007/s00441-018-2973-0>

- Hedges, D. W., Higginbotham, B. J., Salyer, D. L., & Lund, T. D. (2005). Transcranial Magnetic Stimulation Effects on One-Trial Learning and Response to Anxiogenic Stimuli in Adult Male Rats. *The Journal of ECT*, *21*, 25–30. <https://doi.org/10.1097/01.yct.0000154051.73269.62>
- Hennessy, L. A., Seewoo, B. J., Jaeschke, L. A., Mackie, L. A., Figliomeni, A., Arena-Foster, Y., Etherington, S. J., Dunlop, S. A., Croarkin, P. E., & Rodger, J. (2022). Accelerated low-intensity rTMS does not rescue anxiety behaviour or abnormal connectivity in young adult rats following chronic restraint stress. *Neuroimage: Reports*, *2*(3). <https://doi.org/10.1016/j.ynirp.2022.100104>
- Herculano-Houzel, S. (2014). The glia/neuron ratio: How it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. In *GLIA* (Vol. 62, Issue 9, pp. 1377–1391). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/glia.22683>
- Hisaoka-Nakashima, K., Azuma, H., Ishikawa, F., Nakamura, Y., Wang, D., Liu, K., Wake, H., Nishibori, M., Nakata, Y., & Morioka, N. (2020). Corticosterone Induces HMGB1 Release in Primary Cultured Rat Cortical Astrocytes: Involvement of Pannexin-1 and P2X7 Receptor-Dependent Mechanisms. *Cells*, *9*(5), 1068. <https://doi.org/10.3390/cells9051068>
- Hong, Y., Liu, Q., Peng, M., Bai, M., Li, J., Sun, R., Guo, H., Xu, P., Xie, Y., Li, Y., Liu, L., Du, J., Liu, X., Yang, B., & Xu, G. (2020). High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation improves functional recovery by inhibiting neurotoxic polarization of astrocytes in ischemic rats. *Journal of Neuroinflammation*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01747-y>
- Hong, Y., Lyu, J., Zhu, L., Wang, X., Peng, M., Chen, X., Deng, Q., Gao, J., Yuan, Z., Wang, D., Xu, G., & Xu, M. (2022). High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) protects against ischemic stroke by inhibiting M1 microglia polarization through let-7b-5p/HMGA2/NF- κ B signaling pathway. *BMC Neuroscience*, *23*(1). <https://doi.org/10.1186/s12868-022-00735-7>
- Hu, C., Luo, Y., Wang, H., Kuang, S., Liang, G., Yang, Y., Mai, S., & Yang, J. (2017a). Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *PLoS ONE*, *12*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185129>

- Hu, C., Luo, Y., Wang, H., Kuang, S., Liang, G., Yang, Y., Mai, S., & Yang, J. (2017b). Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *PLoS ONE*, *12*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185129>
- Imbe, H., Kimura, A., Donishi, T., & Kaneoke, Y. (2012). Chronic restraint stress decreases glial fibrillary acidic protein and glutamate transporter in the periaqueductal gray matter. *Neuroscience*, *223*, 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.08.007>
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (2019). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018. México: INEGI.
- Jesulola, E., Micalos, P., & Baguley, I. J. (2018). Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? In *Behavioural Brain Research* (Vol. 341, pp. 79–90). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.12.025>
- Kanno, M., Matsumoto, M., Togashi, H., Yoshioka, M., & Mano, Y. (2003). Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on behavioral and neurochemical changes in rats during an elevated plus-maze test. *Journal of the Neurological Sciences*, *211*(1–2), 5–14. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(03\)00030-3](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(03)00030-3)
- Keck, M. E., Engelmann, M., Müller, M. B., Henniger, M. S. H., Hermann, B., Rupprecht, R., Neumann, I. D., Toschi, N., Landgraf, R., & Post, A. (2000). Repetitive transcranial magnetic stimulation induces active coping strategies and attenuates the neuroendocrine stress response in rats. *Journal of Psychiatric Research*, *34*(4–5), 265–276. [https://doi.org/10.1016/S0022-3956\(00\)00028-5](https://doi.org/10.1016/S0022-3956(00)00028-5)
- Kennedy, S. H., & Ceniti, A. K. (2018). Unpacking Major Depressive Disorder: From Classification to Treatment Selection. *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie*, *63*(5), 308–313. <https://doi.org/10.1177/0706743717748883>
- Kim, J. Y., Choi, G. S., Cho, Y. W., Cho, H. K., Hwang, S. J., & Ahn, S. H. (2013). Attenuation of spinal cord injury-induced astroglial and microglial activation by repetitive transcranial magnetic stimulation in rats. *Journal of Korean Medical Science*, *28*(2), 295–299. <https://doi.org/10.3346/jkms.2013.28.2.295>

- Kim, S. Y., Lee, D. W., -Kim, H., Bang, E., Chae, J. H., & Choe, B. Y. (2014). Chronic repetitive transcranial magnetic stimulation enhances GABAergic and cholinergic metabolism in chronic unpredictable mild stress rat model: 1H-NMR spectroscopy study at 11.7T. *Neuroscience Letters*, 572, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.04.033>
- Kobayashi, M., & Pascual-Leone, A. (2003). Transcranial magnetic stimulation in neurology. *THE LANCET Neurology*, 2, 145–156. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00321-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00321-1)
- Komada, M., Takao, K., & Miyakawa, T. (2008). Elevated plus maze for mice. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (22), 1088. <https://doi.org/10.3791/1088>
- Kraeuter, A. K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1916, 99–103. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_9
- Krishnan, V., & Nestler, E. J. (2008). The molecular neurobiology of depression. In *Nature* (Vol. 455, Issue 7215, pp. 894–902). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature07455>
- Lefaucheur, J. P., Aleman, A., Baeken, C., Benninger, D. H., Brunelin, J., Di Lazzaro, V., Filipović, S. R., Grefkes, C., Hasan, A., Hummel, F. C., Jääskeläinen, S. K., Langguth, B., Leocani, L., Londero, A., Nardone, R., Nguyen, J. P., Nyffeler, T., Oliveira-Maia, A. J., Oliviero, A., Padberg, F., ... Ziemann, U. (2020). Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014-2018). *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 131(2), 474–528. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2019.11.002>
- Li, S. X., Han, Y., Xu, L. Z., Yuan, K., Zhang, R. X., Sun, C. Y., Xu, D. F., Yuan, M., Deng, J. H., Meng, S. Q., Gao, X. J., Wen, Q., Liu, L. J., Zhu, W. L., Xue, Y. X., Zhao, M., Shi, J., & Lu, L. (2018). Uncoupling DAPK1 from NMDA receptor GluN2B subunit exerts rapid antidepressant-like effects. *Molecular Psychiatry*, 23(3), 597–608. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.85>
- Li, Y., Luo, Y., Tang, J., Liang, X., Wang, J., Xiao, Q., Zhu, P., Xiao, K., Jiang, L., Dou, X., Huang, C., Xie, Y., & Tang, Y. (2021a). The positive effects of running exercise on hippocampal

astrocytes in a rat model of depression. *Translational Psychiatry*, 11(1).

<https://doi.org/10.1038/s41398-021-01216-x>

Li, Y., Zheng, X., Liang, J., & Peng, Y. (2010). Coexistence of Anhedonia and anxiety-independent increased novelty-seeking behavior in the chronic mild stress model of depression. *Behavioural Processes*, 83(3), 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2010.01.020>

Liu, M. Y., Yin, C. Y., Zhu, L. J., Zhu, X. H., Xu, C., Luo, C. X., Chen, H., Zhu, D. Y., & Zhou, Q. G. (2018). Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature protocols*, 13(7), 1686–1698. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0011-z>

Liu, S. H., Du, Y., Chen, L., & Cheng, Y. (2022). Glial Cell Abnormalities in Major Psychiatric Diseases: A Systematic Review of Postmortem Brain Studies. *Molecular neurobiology*, 59(3), 1665–1692. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02672-8>

Luan, D., Zhao, M.-G., Shi, Y.-C., Li, L., Cao, Y.-J., Feng, H.-X., & Zhang, Z.-J. (2020). Mechanisms of repetitive transcranial magnetic stimulation for anti-depression: Evidence from preclinical studies. *World Journal of Psychiatry*, 10(10), 223–233. <https://doi.org/10.5498/wjp.v10.i10.223>

Malhi, G. S., & Mann, J. J. (2018). Depression. *Lancet* (London, England), 392(10161), 2299–2312. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31948-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31948-2)

Medina-Fernández, F. J., Luque, E., Aguilar-Luque, M., Agüera, E., Feijóo, M., García-Maceira, F. I., Escribano, B. M., Pascual-Leone, Á., Drucker-Colín, R., & Túnez, I. (2017). Transcranial magnetic stimulation modifies astrocytosis, cell density and lipopolysaccharide levels in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Life Sciences*, 169, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.11.011>

Maier, S. F., & Seligman, M. E. (2016). Learned helplessness at fifty: Insights from neuroscience. *Psychological review*, 123(4), 349–367. <https://doi.org/10.1037/rev0000033>

Menke, A. (2019). Is the HPA axis as target for depression outdated, or is there a new hope? In *Frontiers in Psychiatry* (Vol. 10, Issue FEB). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00101>

- Mifsud, K. R., & Reul, J. M. H. M. (2018). Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor-mediated control of genomic responses to stress in the brain. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 21(5), 389–402. <https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1456526>
- Nemeroff, C. B. (2007). Prevalence and management of treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry*, 68, Suppl 8:17-25.
- O'Leary, L. A., & Mechawar, N. (2021). Implication of cerebral astrocytes in major depression: A review of fine neuroanatomical evidence in humans. *Glia*, 69(9), 2077–2099. <https://doi.org/10.1002/glia.23994>
- Ordway, G. A., Szebeni, A., Chandley, M. J., Stockmeier, C. A., Xiang, L., Newton, S. S., Turecki, G., Duffourc, M. M., Zhu, M. Y., Zhu, H., & Szebeni, K. (2012). Low gene expression of bone morphogenetic protein 7 in brainstem astrocytes in major depression. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 15(7), 855–868. <https://doi.org/10.1017/S1461145711001350>
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas de salud relacionados (11ª ed.)*. <https://icd.who.int/en>
- Organización Mundial de la Salud. (2020). *Depresión*. Recuperado de :https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/depression?gad_source=1&gclid=CjwKCAjw48-vBhBbEiwAzqrZVHADXuWI5wBZYKjREDPBikT6B1nhvw0T0zN5RSSKpMSxAmHX69mybRoC0AwQAvD_BwE
- Overmier, J. B., & Seligman, M. E. (1967). Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance responding. *Journal of comparative and physiological psychology*, 63(1), 28.
- Pascual-Leone A., & Tormos-Muñoz J.M. (2008). Estimulación magnética transcranial: fundamentos y potencial de la modulación de redes neurales específicas. In *REVISTA DE NEUROLOGÍA* (Vol. 46, pp. S3-10). Revista de Neurología.
- Peng, Z. W., Xue, F., Zhou, C. H., Zhang, R. G., Wang, Y., Liu, L., Sang, H. F., Wang, H. N., & Tan, Q. R. (2018). Repetitive transcranial magnetic stimulation inhibits Sirt1/MAO-A signaling in the prefrontal cortex in a rat model of depression and cortex-derived astrocytes. *Molecular and cellular biochemistry*, 442(1-2), 59–72. <https://doi.org/10.1007/s11010-017-3193-8>

- Perera, T., George, M. S., Grammer, G., Janicak, P. G., Pascual-Leone, A., & Wirecki, T. S. (2016). The Clinical TMS Society Consensus Review and Treatment Recommendations for TMS Therapy for Major Depressive Disorder. *Brain stimulation*, 9(3), 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.03.010>
- Petković, A., & Chaudhury, D. (2022). Encore: Behavioural animal models of stress, depression and mood disorders. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 16, 931964. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.931964>
- Popoli, M., Yan, Z., McEwen, B. S., & Sanacora, G. (2011). The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nature reviews. Neuroscience*, 13(1), 22–37. <https://doi.org/10.1038/nrn3138>
- Porsolt, R., Le Pichon, M., & Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266, 730–732. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/266730a0>
- Raupp-Barcaro, I. F., Vital, M. A., Galduróz, J. C., & Andreatini, R. (2018). Potential antidepressant effect of amantadine: a review of preclinical studies and clinical trials. *Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil : 1999)*, 40(4), 449–458. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2017-2393>
- Riley, C. P., Cope, T. C., & Buck, C. R. (2004). CNS neurotrophins are biologically active and expressed by multiple cell types. <https://doi.org/https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s10735-004-0778-9>
- Rubinow, M. J., Mahajan, G., May, W., Overholser, J. C., Jurjus, G. J., Dieter, L., Herbst, N., Steffens, D. C., Miguel-Hidalgo, J. J., Rajkowska, G., & Stockmeier, C. A. (2016). Basolateral amygdala volume and cell numbers in major depressive disorder: a postmortem stereological study. *Brain Structure and Function*, 221(1), 171–184. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0900-z>
- Ruohonen, J., & Ilmoniemi, R. J. (2005). Basic physics and design of transcranial magnetic stimulation devices and coils. In *Magnetic stimulation in clinical neurophysiology* (pp. 17-30). Butterworth-Heinemann.

- Rush, J. A., Trivedi, M. H., Wisniewski, S. R., Nierenberg, A. A., Stewart, J. W., Warden, D., George Niederehe, M., Thase, M. E., Lavori, P. W., Lebowitz, B. D., McGrath, P. J., Rosenbaum, J. F., Sackeim, H. A., Kupfer, D. J., Luther, J., & Maurizio Fava, M. (2006). Acute and Longer-Term Outcomes in Depressed Outpatients Requiring One or Several Treatment Steps: A STAR*D Report. In *Am J Psychiatry* (Vol. 163, Issue 11). www.star-d.org
- Saha, R. N., Liu, X., & Pahan, K. (2006). Up-regulation of BDNF in Astrocytes by TNF- α : A Case for the Neuroprotective Role of Cytokine. *J Neuroimmune Pharmacol*, 1(3), 212–222. <https://doi.org/10.1007/s11481-006-9020-8>
- Sasso, V., Bisicchia, E., Latini, L., Ghiglieri, V., Cacace, F., Carola, V., Molinari, M., & Viscomi, M. T. (2016). Repetitive transcranial magnetic stimulation reduces remote apoptotic cell death and inflammation after focal brain injury. *Journal of Neuroinflammation*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0616-5>
- Slattery, D. A., & Cryan, J. F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature protocols*, 7(6), 1009–1014. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.044>
- Stevanovic, I., Mancic, B., Ilic, T., Milosavljevic, P., Lavrnja, I., Stojanovic, I., & Ninkovic, M. (2019). Theta burst stimulation influence the expression of BDNF in the spinal cord on the experimental autoimmune encephalomyelitis. *Folia Neuropathologica*, 57(2), 129–145. <https://doi.org/10.5114/fn.2019.86294>
- Strekalova, T., Couch, Y., Kholod, N., Boyks, M., Malin, D., Leprince, P., & Steinbusch, H. M. W. (2011). Update in the methodology of the chronic stress paradigm: Internal control matters. In *Behavioral and Brain Functions* (Vol. 7). <https://doi.org/10.1186/1744-9081-7-9>
- Strekalova, T., Liu, Y., Kiselev, D., Khairuddin, S., Lok, J., Chiu, Y., Lam, J., Chan, Y.-S., Pavlov, D., Proshin, A., Lesch, K.-P., Anthony, D. C., Lee, & Lim, W. (2022). Chronic mild stress paradigm as a rat model of depression: facts, artifacts, and future perspectives. *Psychopharmacology*, 239, 663–693. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05982-w>
- Tian, L., Sun, S. S., Cui, L. B., Wang, S. Q., Peng, Z. W., Tan, Q. R., Hou, W. G., & Cai, M. (2020). Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Elicits Antidepressant- and Anxiolytic-like Effect

via Nuclear Factor-E2-related Factor 2-mediated Anti-inflammation Mechanism in Rats. *Neuroscience*, 429, 119–133. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.12.025>

Valencia-Florez, K. B., Sánchez-Castillo, H., Baruch, K., Vázquez, P., Zarate, P., & Paz, D. B. (2023). Stress, a Brief Update. *International Journal of Psychological Research*, 16(2), 105–121. <https://doi.org/10.21500/20112084.5815>

Valero-Cabré, A., Amengual, J. L., Stengel, C., Pascual-Leone, A., & Coubard, O. A. (2017). Transcranial magnetic stimulation in basic and clinical neuroscience: A comprehensive review of fundamental principles and novel insights. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 83, 381–404. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.10.006>

Wang, H. ning, Wang, L., Zhang, R. guo, Chen, Y. chun, Liu, L., Gao, F., Nie, H., Hou, W. gang, Peng, Z. wu, & Tan, Q. (2014). Anti-depressive mechanism of repetitive transcranial magnetic stimulation in rat: The role of the endocannabinoid system. *Journal of Psychiatric Research*, 51(1), 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.01.004>

Wang, S., Mao, S., Yao, B., Xiang, D., & Fang, C. (2019). Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on depression- And anxiety-like behaviors in epileptic rats. *Journal of Integrative Neuroscience*, 18(3), 237–243. <https://doi.org/10.31083/j.jin.2019.03.1100>

Wang, Y. L., Han, Q. Q., Gong, W. Q., Pan, D. H., Wang, L. Z., Hu, W., Yang, M., Li, B., Yu, J., & Liu, Q. (2018). Microglial activation mediates chronic mild stress-induced depressive- and anxiety-like behavior in adult rats. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1054-3>

Willner P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, 83(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/BF00427414>

Willner P. (2016). The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiology of stress*, 6, 78–93. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.08.002>

Yan, H. C., Cao, X., Das, M., Zhu, X. H., & Gao, T. M. (2010). Behavioral animal models of depression. *Neuroscience bulletin*, 26(4), 327–337. <https://doi.org/10.1007/s12264-010-0323-7>

Yan, J., Zhang, F., Niu, L., Wang, X., Lu, X., Ma, C., Zhang, C., Song, J., & Zhang, Z. (2022). High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation mitigates depression-like behaviors in

CUMS-induced rats via FGF2/FGFR1/p-ERK signaling pathway. *Brain Research Bulletin*, 183, 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.020>

Yang, J., Wang, L., Wang, F., Tang, X., Zhou, P., Liang, R., Zheng, C., & Ming, D. (2019). Low-frequency pulsed magnetic field improves depression-like behaviors and cognitive impairments in depressive rats mainly via modulating synaptic function. *Frontiers in Neuroscience*, 13(JUL). <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00820>

Yang, L., Wang, S., Hu, Y., Sui, Y., Peng, T., & Guo, T. (2018). Effects of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Astrocytes Proliferation and nNOS Expression in Neuropathic Pain Rats. *Current Medical Science*, 38(3), 482–490. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11596-018-1904-3>

Yao, J., Chen, C., Guo, Y., Yang, Y., Liu, X., Chu, S., Ai, Q., Zhang, Z., Lin, M., Yang, S., & Chen, N. (2023). A Review of Research on the Association between Neuron–Astrocyte Signaling Processes and Depressive Symptoms. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms24086985>

Zhang, X., Zhang, Z., Xie, C., Xi, G., Zhou, H., Zhang, Y., & Sha, W. (2008). Effect of treatment on serum glial cell line-derived neurotrophic factor in depressed patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(3), 886–890. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.01.004>

Zhao, L., Ren, H., Gu, S., Li, X., Jiang, C., Li, J., Zhang, M., Mu, J., Li, W., Wang, W., Zhang, Z., & Song, J. (2018). rTMS ameliorated depressive-like behaviors by restoring HPA axis balance and prohibiting hippocampal neuron apoptosis in a rat model of depression. *Psychiatry Research*, 269, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.08.017>

Zhao, Y. F., Verkhatsky, A., Tang, Y., & Illes, P. (2022). Astrocytes and major depression: The purinergic avenue. *Neuropharmacology*, 220, 109252. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109252>