



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

*Efecto del estrés temprano y tardío sobre conductas vulnerables
y la activación de C-Fos en el cerebro de rata.*

TESIS

Que para obtener el título de:
Licenciada en Psicología

Presenta:

Erika Daniela Hernández Reyes

Directora de Tesis:

Dra. Zeidy Vanessa Muñoz Torres

Revisor de Tesis:

Dr. Octavio César García González

Sinodo:

Dr. Hugo Sánchez Castillo

Dra. Laura Elisa Ramos Languren

Mtro. José Antonio Hernández Santos



**Facultad
de Psicología**

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de plasticidad sináptica y ensambles neuronales, a cargo de la Dra. Corinne J. Montes Rodríguez, en la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional Autónoma de México con el apoyo económico de DGAPA-UNAM, Proyecto PAPIIT IA206516.

Agradezco a PAPIIT por la beca recibida.

Parte de los resultados de esta tesis fueron presentados en el congreso internacional Society for neuroscience 2017, Washington, DC, USA:

Hernández-Reyes, E. D., Piña-Díaz, V., Valle-Nava, M., Yañez-Vargas, J., Montes-Rodríguez C. J. (2017) “Medium social stress promotes resilient behavior in rats” *48th Annual Meeting of the Society for Neuroscience*. Society for Neuroscience. Washington, DC, USA.

“Lugares que hace tiempo dejaron de existir y personas que han desaparecido de nuestra vida siguen vivos en la memoria”.

(Schacter, 1999)

Dedicatoria

El concepto de “realidad” es uno de los primeros términos que se abordan cuando estudias psicología, es tan sencilla su definición que se presta a tantas interpretaciones como personas en el mundo, incluso hay teorías enteras sobre “la realidad”, más bien, “las realidades” y es que justo de eso se trata, de un concepto sumamente subjetivo y que depende en su totalidad de cada individuo, de su contexto cultural, de sus vivencias e incluso la percepción de sus sentidos.

La ciencia es una realidad estandarizada en la que se pretende ser objetivo a través de un método sumamente estricto y lleno de mediciones, a pesar de ello, se escuchan las voces de cada persona que ha aportado un grano de arena al conocimiento y es que sin esos diversos pensamientos sobre un fenómeno sería imposible construir el conocimiento.

Este trabajo de investigación es el resultado de un largo proceso de aprendizaje y discusiones académicas con mi grupo de trabajo, mis profesores y por supuesto con mi familia y mis amigos, a quienes les dedico este trabajo, especialmente a mis padres que sin su apoyo y amor no hubiese sido posible.

Reconocimientos

Se reconoce a la Dra. Corinne J. Montes Rodríguez, como directora original de tesis.

A la Dra. Zeidy V. Muñoz, por su apoyo académico y para que fuera posible la conclusión de este trabajo.

Al Dr. Oscar García Prospero y al laboratorio de Cannabinoides quienes me abrieron la puerta de su laboratorio como espacio de formación académica y de trabajo.

También al Dr. Isaac Gonzáles Santoyo por el apoyo y préstamo del espacio de microscopia de su laboratorio en la facultad de psicología.

Finalmente se reconoce a mi revisor de tesis el Dr. Octavio C. García González por el tiempo y la paciencia que le dedico a mi proyecto de tesis. Y a mi sínodo, conformado por el Dr. Hugo Sánchez Castillo, la Dra. Laura Elisa Ramos Languren y el Mtro. José Antonio Hernández Santos, por sus valiosos comentarios, que ayudaron a mejorar esta tesis.

Agradecimientos

Al laboratorio de plasticidad sináptica y ensambles neuronales:

Dra. Corinne J. Montes Rodríguez, quien fue mi profesora y directora original de tesis, gracias por el tiempo que dedicaste a mi aprendizaje, por los espacios de reflexión y discusión académica, por ser guía y compañía en este proceso de formación, por enseñarme el amor a la ciencia, a lidiar con los procesos rígidos de la institución y luchar por hacer ciencia. Infinitas gracias por todo el apoyo personal que me brindaste.

Dra. Zeidy Muñoz, quien ha sido compañía y alegría en este proceso, infinitas gracias por todo el apoyo que me has dado, por abrirnos la puerta de tu laboratorio y los espacios académicos para poder seguir con este proyecto a pesar de las dificultades.

Vanessa Piña, quien fue mi compañera, apoyo y monitor durante este tiempo, gracias por tu paciencia, tu escucha y tus consejos, por enseñarme que la perseverancia tiene frutos y que la fortaleza es mucho más grande que la adversidad.

Itzel Zarazúa, gracias por la compañía, por permitirme enseñarte lo poco o mucho que aprendí en este proceso, por tenerme paciencia y enseñarme a enseñar.

Gracias a Emiliano Urteaga, que directa e indirectamente ha estado en este proceso y ha sido parte importante de cada proyecto que hemos realizado en el laboratorio

A mi familia:

Victoria, gracias por luchar a mi lado en cada sueño y locura, por ayudarme a alcanzar cada meta, por acompañarme en cada etapa de mi vida, en mi felicidad, mis miedos, mis tristezas y aventuras, por levantarme cuando no puedo más, escucharme, por darme los mejores consejos y los abrazos más confortables.

David, gracias por darme la oportunidad de alcanzar mis sueños y dedicarme tu tiempo en trabajo, por darme un lugar seguro y por procurar mi salud. Infinitas gracias por enseñarme que la vida no es fácil y que la disciplina es importante.

Xime, gracias por cuidarme, apoyarme, consentirme, enseñarme y brindarme momentos de mucha alegría.

Lizbeth, mi hermana por elección y medio limón, infinitas gracias por tu amistad incondicional, por ser mi cómplice, por todas las alegrías compartidas, por todo tu apoyo, regañadas y motivación.

A mis Abuelas Silvia, Enriqueta y Lulú, gracias por estar conmigo, por sus pláticas, por su amor incondicional, por apoyarme en mis sueños y alegrarse de mis logros.

A Gerardo, Mónica, Ricardo, Lilian, Jorge, Diana, Rafael, Claudia, Amelia, Magui, Pedro y todos mis tíos y primos que faltan por mencionar, gracias por todo el apoyo y el amor que me han dado para cumplir esta meta.

A mis amigos:

A Fabi Ortiz, Naye Flores, Irel Martínez, Lena Guerrero y Enrique, gracias por su amistad, por su apoyo, sus pláticas, por esas horas de estudio, su compañía en horarios mixtos y todos los recuerdos que construimos.

A Dani, gracias por acompañarme durante este proceso tan complicado de mi vida, por ser fiel a esta amistad y cariño, por ayudarme y darme tu opinión respecto a este trabajo. Durante este proceso jamás me sentí sola a tú lado.

A Carlos Gachuz, gracias por creer en mí, por el amor y apoyo que me has brindado en este proceso, por todas esas charlas, discusiones y desenredos mentales que sin duda fueron importantes para este trabajo.

A Monse Nava, Emmanuel Diaz, Emilio Peñaflor, Valeria Ancona y Ana Victoria Ruiz gracias por todo su apoyo, su compañía y por sus palabras de aliento, sin duda han sido muy importantes en este proceso.

Índice

1. INTRODUCCIÓN	13
2. ANTECEDENTES.....	16
2.1. Vulnerabilidad y resiliencia.....	16
2.1.1. Del estrés a la vulnerabilidad y resiliencia.....	16
2.2. Modelos animales en la vulnerabilidad y resiliencia	19
2.2.1. Separación Maternal (SM).....	23
2.2.2. Derrota social (DS).....	25
2.2.3. Separación maternal con derrota social (SM+DS).....	28
2.3. El cerebro en la vulnerabilidad y resiliencia	30
2.3.1. Neurofisiología de la vulnerabilidad y resiliencia.....	30
2.3.2. Hipocampo (HPC).....	31
2.3.3. Corteza prefrontal (CPF)	32
2.3.4. Plasticidad sináptica en la vulnerabilidad y resiliencia	33
2.3.5. Gen de expresión temprana c-fos	35
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	41
3.1. Justificación.....	41
3.2. Preguntas de investigación.....	42
3.3. Objetivos	43
3.3.1. General	43
3.3.2. Específicos	43
3.4. Hipótesis	44
3.4.1. Generales.....	44
3.4.2. Especificas.....	44
4. MATERIALES Y MÉTODO	45
4.1. Animales	45
4.2. Tipo de estudio y grupos experimentales	46
4.3. Procedimiento experimental.....	47
4.3.1. Marcaje de crías	48
4.3.2. Separación maternal.....	48
4.3.3. Derrota social leve	49

4.4.	Pruebas.....	51
4.4.1.	Preferencia de sacarosa.....	51
4.4.2.	Campo abierto.....	52
4.4.3.	Nado forzado	53
4.4.4.	Interacción social.....	55
4.5.	Perfusión y preparación del tejido.....	57
4.5.1.	Inmunohistoquímica	58
4.6.	Análisis estadístico	59
5.	RESULTADOS.....	60
5.1.	La separación maternal no tuvo efecto en los encuentros de derrota social leve.....	60
5.2.	La derrota social leve produjo cambios en el peso corporal	62
5.3.	La derrota social leve indujo cambios en el consumo de sacarosa.....	63
5.4.	La derrota social leve no produjo efectos ansiogénicos	65
5.5.	La derrota social leve no indujo cambios de motivación.	66
5.6.	La derrota social leve incremento el tiempo de interacción social.....	67
5.7.	Las experiencias adversas produjeron cambios en la expresión de c-fos.....	69
6.	DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	74
6.1.	Discusión.....	74
6.2.	Conclusión y perspectivas.....	78
7.	REFERENCIAS	80

Abreviaturas

ACTH	Hormona adrenocorticotropa
ACd	Área cingulada anterior dorsal
AMY	Amígdala
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
C	Control
CC	Control de caja
CAC	Cíngulo anterior
CB1	Receptor a cannabinoide tipo 1
CPF	Corteza prefrontal
CPFm	Corteza prefrontal medial
CRF	Factor de liberación de corticotropina
CRH1	Receptor a la hormona liberadora de corticotropina 1
DM	Núcleo talámico dorso medial
DP	Día posnatal
DS	Derrota social
DSL	Derrota social leve
Fr2	Área frontal 2
GD	Giro dentado
GR	Receptores de glucocorticoides
HPA	Eje hipotalámico-hipofisario-adrenal
HPC	Hipocampo
HPCv	Hipocampo ventral
HPCd	Hipocampo dorsal
IEGs	Genes de expresión temprana
IL	Área infralímbica
LTP	Potenciación a largo plazo
mGluR5	Receptor metabotrópico de glutamato 5
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
NAcc	Núcleo accumbens
OC	Corteza orbito frontal
PrL	Área prelímbica
RD	Rafe dorsal
SM	Separación maternal
SM+DSL	SM con derrota social leve
TDM	Trastorno depresivo mayor
TEPT	Trastorno de estrés postraumático
TNF-A	Factor de necrosis tumoral-alfa
tph2	Triptófano hidroxilasa 2
VTA	Área tegmental ventral

Resumen

Los eventos adversos promueven estados de estrés que pueden desencadenar el desarrollo de patologías como los trastornos de ansiedad, depresión y estrés postraumático. Sin embargo, no todos los individuos responden de la misma manera ante un evento adverso. Los sujetos vulnerables son aquellos que no desarrollan la capacidad para sobreponerse a una situación de riesgo. Contrario a ellos, los individuos resilientes son aquellos que logran recuperarse de la adversidad. Se ha planteado que el desarrollo de sujetos vulnerables o resilientes podría deberse a factores como la genética, la naturaleza del trauma, el contexto y la etapa de vida en la que se presenta el evento adverso. A pesar de que las experiencias adversas en diferentes etapas de la vida parecen relevantes para promover sujetos vulnerables o resilientes, son pocos los trabajos que evalúan el efecto de la adversidad a lo largo de la vida y que además utilizan indicadores de plasticidad sináptica. El presente estudio buscó evaluar, mediante un modelo con ratas Wistar, eventos adversos como la separación maternal (SM), la derrota social leve en la vida adulta (DSL) y la separación maternal con derrota social leve (SM+DSL) promueven conductas vulnerables en la etapa adulta y si estos cambios se asocian a la actividad de c-fos, un indicador de plasticidad sináptica dependiente de la actividad. Los resultados conductuales mostraron que las condiciones con DSL y SM+DSL promovieron conductas de tipo anhedónicas y baja motivación. Interesantemente, el grupo de SM+DSL mostró un aumento en el tiempo en la zona de interacción social. Un análisis de expresión de la proteína de c-fos encontró un mayor número de células positivas a c-fos en la corteza infralímbica cuando los animales tenían interacción social y en la corteza prelímbica cuando los animales mostraron el tipo de experiencia adversa. Un mayor número de células positivas a c-fos fue observado en el giro dentado cuando los animales fueron sometidos a un solo evento adverso en la vida adulta. Estos resultados sugieren que la corteza prefrontal medial y el hipocampo dorsal podrían ser sistemas implicados en los cambios adaptativos del cerebro ante eventos adversos durante el desarrollo.

Palabras clave: Adversidad, vulnerabilidad, resiliencia, separación maternal, derrota social leve.

1. Introducción

El término estrés, suele asociarse a estados patológicos y que aluden a una reacción ante situaciones amenazantes o de excesiva demanda, que ponen en riesgo la supervivencia del sujeto y de la especie (Valdés y De Flores, 1985). Se ha reportado que los eventos estresantes o adversos, facilitan el desarrollo de diversas psicopatologías, como el trastorno depresivo mayor (TDM), el trastorno de ansiedad y el trastorno de estrés postraumático (TEPTT) (Franklin et al., 2012).

En este sentido, se le llama sujetos vulnerables a aquellos que no exhiben la capacidad para sobreponerse a un conflicto o problemática y, por lo tanto, se encuentran en situación de riesgo (González, 2015). Sin embargo, no todos los individuos responden de la misma manera al estrés, en contraste, los sujetos resilientes tienen la capacidad para mantener un funcionamiento adaptativo físico y psicológico en situaciones adversas; por lo cual, no se trata de una característica permanente, sino del resultado de un proceso dinámico y evolutivo que varía de acuerdo con las circunstancias, la naturaleza del trauma, el contexto y la etapa de vida (Manciaux et al., 2001).

Recientemente, se han propuesto que para que un sujeto sea vulnerable o resiliente se requiere de la interacción de factores como la genética, el tipo y la intensidad de la exposición del estrés durante diferentes etapas. Siendo, la interacción de estos factores, que modifica el umbral al estrés y con ello el significado del contexto, lo que impacta en la salud mental modulando así la presencia de vulnerabilidad o resiliencia (Daskalakis et al., 2013).

Si bien las experiencias adversas en diferentes etapas de la vida parecen relevantes para promover sujetos vulnerables o resilientes (Madariaga, 2014), son pocos los trabajos que describen

esta perspectiva, por ejemplo, Daskalakis et al. (2013) retoma diferentes estudios en roedores, primates y humanos para explicar las diferentes posturas teóricas del procesamiento del estrés y su efecto a lo largo del desarrollo y Gardner et al. (2005; 2009) comienzan a explorar a través de un modelo roedor el efecto de un estresor sobre otro en diferentes etapas de la vida.

Para el estudio de la vulnerabilidad y resiliencia, se han propuesto diferentes modelos animales en los que se expone al animal a situaciones o contextos de estrés durante la vida temprana o adulta. Al término de estas exposiciones, con baterías conductuales se evalúan dominios conductuales como motivación, conductas de tipo depresivas y conductas de interacción social (Franklin et al., 2012; Pfau y Russo, 2015).

Las baterías de pruebas conductuales son útiles para distinguir los efectos de las manipulaciones experimentales adversas y para estudiar la relación entre la conducta y los mecanismos cerebrales específicos (Cryan y Holmes, 2005). Por ejemplo, se ha reportado que c-fos, protooncogén que pertenece a la familia de genes de expresión temprana, es una herramienta útil para asociar su actividad a una conducta específica que involucra el uso de habilidades como la memoria y el aprendizaje. Además, se ha mostrado que permite marcar la cartografía de vías celulares y funcionales que intervienen en procesos emocionales, respuestas neuroendocrinas al estrés y neuronas que están implicadas en procesos de plasticidad sináptica inducida por el aprendizaje (Kaczmarek et al., 2002 y Febbraro et al., 2017).

En relación con esto, Martinez et al., (2002) reportaron diferentes patrones de activación de la proteína c-fos cuando los animales son expuestos o no a un encuentro de derrota social (DS) y Cohenn et al., (2018) mostraron que ratones knockout de la proteína quinasa II dependiente de calcio/gamma calmodulina era menos capaces de aprender a localizar la plataforma oculta en agua en una tarea de laberinto de Morris, observando además que no había aumento significativo

en la expresión de c-fos, contrario al grupo control que aprendían a localizar la plataforma y se observaba un aumento en la señal de c-fos.

Por otra parte, se han descrito diversos mecanismos y estructuras involucrados en la vulnerabilidad y resiliencia, por ejemplo, se ha reportado que la corteza prefrontal medial (CPFm) y el hipocampo (HPC) son estructuras fundamentales para afrontar el estrés, incluso se han involucrado en trastornos de ánimo y ansiedad (Mizumori y Jo, 2013). Además, se ha reportado que los circuitos cerebrales relacionados con el estrés, como el sistema neuroendocrino y el circuito de recompensa presentan cambios en la plasticidad sináptica (Russo et al., 2012). Dicho proceso tiene un efecto sobre la cognición, la regulación emocional y el comportamiento (McEwen y Gianaros, 2011; Días-Ferreira et al. 2009; Danielewicz y Hess, 2017).

A pesar de esto, los estudios sobre el papel que juega la plasticidad sináptica en la vulnerabilidad y resiliencia son recientes, no son claros y son escasos (Russo et al. 2012). Lo que abre la posibilidad a un largo camino de investigación para dilucidar los sustratos neuronales que participan en la vulnerabilidad y resiliencia. Asimismo, los estudios enfocados a conocer el efecto de las experiencias adversas en las diferentes etapas del desarrollo sobre las conductas vulnerables o resilientes son escasos, por lo que esta tesis tuvo como objetivo evaluar si las experiencias adversas que se presentan a lo largo del desarrollo promueven conductas vulnerables y modifican la expresión de c-fos (plasticidad sináptica dependiente de la actividad) en la CPFm y el HPC dorsal de ratas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Vulnerabilidad y resiliencia

2.1.1. *Del estrés a la vulnerabilidad y resiliencia*

Clásicamente, el estrés, se define como una condición que perturba gravemente el equilibrio fisiológico y psicológico de un individuo (Franklin et al., 2012). No obstante, el concepto de estrés es amplio y existen muchas definiciones; diversos autores, han hecho esfuerzos por reducir este concepto y hacer una definición más precisa, sin embargo, gran parte de la insatisfacción en las definiciones de este concepto se origina a partir de dos problemas (Romero et al., 2009).

El primer problema del término “estrés” es que abarca tres conceptos relacionados: 1) Estímulos (tanto internos como externos), 2) La emergencia fisiológica y conductual (las respuestas activadas), 3) las patologías relacionadas con esta respuesta. Y el segundo problema de este concepto, deriva de una incapacidad para definir rigurosamente estos tres conceptos (Romero et al., 2009). En este sentido y para fines de esta tesis, utilizaremos el término estrés, aludiendo a una reacción dada situaciones amenazantes o de excesiva demanda, que pone en riesgo la supervivencia del sujeto y de la especie y que suelen asociarse a estados patológicos (Valdés y Dees, 1985).

Se han reportado diversas psicopatologías relacionadas con el estrés, como el TDM, el trastorno de ansiedad y el TEPT; Todos ellos, perturban los dominios conductuales, cognitivos y sociales (Franklin et al., 2012). Si bien, el estrés no afecta de la misma manera a todos los sujetos, los individuos vulnerables se adaptan mal a los factores estresantes y expresan respuestas inapropiadas que pueden convertirse en estados persistentes de estrés; existen sujetos resilientes

que perciben la adversidad como una amenaza mínima y desarrollan respuestas adaptativas (Del Giudice et al., 2018).

El concepto de vulnerabilidad ha sido abordado desde diferentes disciplinas, ajustando su contenido y desarrollo diferencialmente a cada una de ellas para poder cubrir sus respectivos objetivos. Desde el área de la salud, en la construcción de la vulnerabilidad intervienen una serie de variables como; riesgo, afrontamiento, resiliencia, estrés, apego e inteligencia emocional; dichos factores modulan su configuración, consiguiendo que la vulnerabilidad se transforme en un factor de riesgo. Finalmente, se podría definir a la vulnerabilidad como el grado de susceptibilidad que tiene una persona hacia los problemas relacionados con la salud o como una condición que modula la probabilidad de padecer enfermedades, accidentes o lesiones autoinfligidas (Del Castillo, 2015).

Por el contrario, el concepto de resiliencia se define como la adaptación exitosa y la recuperación rápida que sucede después de experimentar adversidad severa a lo largo de la vida (Rutten et al., 2013). Se trata de un proceso activo pues la interacción de factores como la edad, el sexo, la cultura, la genética y la exposición al estrés durante el desarrollo temprano y durante la vida adulta, juegan un papel importante para moldear sujetos resilientes o vulnerables (Franklin et al. 2012; Daskalakis et al. 2013).

Recientemente se ha puesto énfasis en el estudio del procesamiento del estrés y su efecto a lo largo del desarrollo, por lo que se han propuesto diferentes posturas teóricas dirigidas a predecir la vulnerabilidad o la resiliencia (Del Giudice et al., 2018) como: 1) la hipótesis de estrés acumulativo, que plantea que la exposición temprana a factores estresantes es perjudicial, 2) la hipótesis de la inoculación, que establece que la exposición temprana a los factores estresantes conduce al afrontamiento y, 3) la teoría de coincidencia / desajuste, que sugiere que pueden

esperarse consecuencias beneficiosas si los individuos están expuestos a adversidades similares (coincidencia) en la edad adulta, mientras que un entorno no coincidente puede conducir a una mayor vulnerabilidad para las psicopatologías (Genty et al., 2018).

Por otra parte, Del Giudice et al. (2018), propone el modelo de calibración adaptativa, el cual tiene un enfoque evolutivo, que toma en cuenta las diferencias individuales como sistema de respuesta al estrés y que postula que las diferencias individuales en la capacidad de respuesta al estrés son en gran medida el resultado de la adaptación condicional (capacidad de un organismo para modificar la trayectoria de su desarrollo) para adaptarse a las condiciones del entorno social y físico. El sistema de respuesta del estrés tiene tres funciones biológicas principales: 1) coordinar la respuesta estática del organismo a los desafíos físicos y psicosociales, 2) codificar y filtrar información sobre el entorno social y físico del organismo y, 3) regular la fisiología y el comportamiento del organismo en una amplia gama de áreas relevantes para la aptitud física, que incluyen el crecimiento, la toma de riesgos competitivos, el aprendizaje, el apego, la afiliación y el funcionamiento reproductivo.

Finalmente, el trabajo de Daskalakis et al. (2013), propone que para que un sujeto sea vulnerable o resiliente, se requiere de tres factores importantes: 1) la genética, 2) la exposición e intensidad al estrés durante el desarrollo temprano y, 3) la exposición e intensidad al estrés durante la vida adulta. Siendo probable que la suma de las experiencias adversas a lo largo del desarrollo modifique el umbral del estrés y con ello el significado del contexto, modulando la vulnerabilidad y la resiliencia.

Dado lo anterior, no solo factores como el estrés o la genética de los individuos son importantes para modular la aparición de psicopatologías, sino también en las diferentes etapas de la vida parecen ser relevantes para promover sujetos vulnerables o resilientes (Madariaga,

2014). Sin embargo, dentro de este tema apenas se comienza a estudiar de forma sistemática, como las experiencias adversas en diferentes etapas de la vida modulan la vulnerabilidad.

2.2. Modelos animales en la vulnerabilidad y resiliencia

Los animales distintos al ser humano experimentan emociones de modo cotidiano, la diferencia entre los humanos y los animales no humanos está establecida por el grado y la manera en la que se expresan, de manera directamente proporcional al desarrollo del telencéfalo y sus conexiones al sistema límbico, lo anterior no descarta que la manifestación de las emociones de los animales no humanos pueda ser evidenciada a través de pautas conductuales a identificar, para establecer analogías con la expresión humana (Contreras et al., 2003).

Por ejemplo, la ansiedad es una reacción ante una amenaza que involucra alteraciones neuroquímicas y que alteran el funcionamiento de diversas estructuras; en los humanos, se caracteriza por cambios motores, irritabilidad, actitudes agresivas o de desaprobación, sensación de vulnerabilidad, vigilancia exacerbada y reacciones emocionales exageradas ante el peligro. Al igual, que la ansiedad en animales no humanos, específicamente en roedores, la ansiedad se observa en alteraciones conductuales que tienden ir hacia los extremos, como el aumento de actividad locomotora, el congelamiento conductual, aumento en la frecuencia cardiaca y de la temperatura corporal, el desarrollo de úlceras gástricas y diversos cambios metabólicos tales como el aumento de la adrenalina, noradrenalina y el cortisol en la Sangre. Este tipo de conductas y reacciones fisiológicas son empleadas para estudiar los mecanismos y acciones asociadas a una patología. Es notable mencionar, que el estrés es un factor causal importante en los desórdenes afectivos como la ansiedad, por lo que se ha propuesto, una estrecha relación entre este trastorno y el estrés (Contreras et al., 2003).

En cuanto a las relaciones conductuales sobre la vulnerabilidad y resiliencia en modelos animales, las conductas de tipo vulnerables están bien definidas en los modelos. No obstante, las conductas relacionadas con estrategias de afrontamiento adaptativo (resilientes) no son claras, pese a que, al igual que los humanos, los animales utilizan estrategias de afrontamiento activo ante eventos adversos, tales como el comportamiento defensivo, la lucha o huida de un contexto adverso, o se puede interpretar como estrategias resilientes, cuando el sujeto sometido a un modelo de estrés no desarrolla algún trastorno relacionado con el estrés, todas estas conductas pueden medirse de manera confiable como reflejo de respuestas al estrés (Franklin et al., 2012).

Existe una variedad muy grande de modelos de estrés estandarizados que se usan para estudiar la vulnerabilidad y resiliencia, los cuales pueden ser aplicados tanto en el desarrollo temprano como en la vida adulta y, por lo regular, después de que los animales son sometidos al estresor son evaluados con baterías conductuales que miden conductas relacionadas con la motivación, la ansiedad, y/o la interacción social (Franklin et al. 2012; Pfau y Russo, 2015). Para fines de esta tesis, se ha planteado usar modelos de estrés social que imitan la etiología y la sintomatología de las patologías relacionadas con el ser humano, ya que, el estrés social es un factor de riesgo en común con los humanos que induce conductas de tipo vulnerable, por lo que los estímulos sociales representan una herramienta ideal para el estudio de estas patologías (Sgoifo et al., 2001).

En este sentido, los modelos de estrés como la separación maternal (SM), que consiste en periodos de privación de la madre a las crías y, la derrota social (DS), la cual consiste en introducir a una rata adulta (intruso) en la caja de otra rata adulta más agresiva y de mayor tamaño (residente), son modelos de estrés social que inducen conductas de tipo vulnerable (Franklin et al., 2012).

Los modelos animales de ansiedad, depresión, demencia o envejecimiento a menudo implican probar a los sujetos en baterías de pruebas conductuales para evaluar patrones de comportamiento asociados a conductas desadaptativas o adaptativas (Feyissa et al., 2017). Además, son útiles para distinguir los efectos de las manipulaciones experimentales y para hacer relaciones importantes entre conductas y mecanismos cerebrales específicos asociados a estos trastornos (Cryan y Holmes, 2005).

Dentro del arsenal de pruebas de comportamiento de tipo ansioso y tipo depresivo en roedores, existen diferentes formas de evaluar el estado y los rasgos conductuales asociados a estos trastornos (Stukalin y Einat, 2017). Por ejemplo, se ha descrito que la disminución del peso corporal es un indicador de baja motivación y anhedonia (Shalev y Kafkafi, 2002; Becker et al., 2008).

El resultado de este indicador depende del modelo de estrés que se utilice, por ejemplo, se ha reportado que el paradigma “pellizcó de cola” en roedores induce incremento en el consumo de alimento, mientras que el “estrés de restricción de espacio”, disminuye el consumo de alimento, esta diferencia se da como resultado de la gama de síntomas tanto en humanos como en animales que desencadena trastornos como la depresión o ansiedad, que involucra cambios bioquímicos, fisiológicos y conductuales que se dan en el organismo y que van acompañados de muchos problemas conductuales, sociales y de salud, entre estos figuran algunos cambios en la conducta alimenticia, como la disminución de la ingesta, o aumento exagerado de la misma, lo que produce a su vez pérdida de peso u obesidad, según el caso (González-Torres et al., 2010).

También, Harro et al. (2001), han utilizado el protocolo de estrés crónico impredecible para inducir depresión y ansiedad en ratas, que fueron evaluadas posteriormente en la prueba de preferencia a sacarosa para observar conductas de tipo anhedónico, es decir, la capacidad reducida de experimentar placer o recompensa (la reducción del consumo de sacarosa es un indicador de anhedonia), mientras que la prueba de nado forzado mide conductas de motivación (aumento del tiempo de inmovilidad o la reducción del tiempo de escape son indicador de baja motivación), la prueba de campo abierto que mide conductas de tipo ansiosas (mayor tiempo en la periferia indica conductas de tipo ansiosa), y la prueba de interacción social que mide conductas de ansiedad social (el aumento de tiempo de no interacción social es un indicador de ansiedad social).

De la misma manera, Sáenz et al. (2006), utilizó un protocolo de diferentes condiciones de vivienda para evaluar si el aislamiento social en ratas induce conductas de tipo depresivo. Al finalizar las manipulaciones experimentales, las ratas fueron sometidas a la prueba de campo abierto, preferencia de sacarosa y nado forzado. Trabajos similares fueron realizados por Boyko et al. (2015), quienes utilizaron un modelo de contagio de depresión, en donde evaluaron la preferencia de sacarosa, campo abierto y nado forzado. Estos trabajos demuestran que después de someter a los animales a condiciones de estrés se pueden evaluar conductas similares a la vulnerabilidad y resiliencia.

2.2.1. Separación Maternal (SM)

Se considera que el modelo de SM combina distintos tipos de estresores, por ejemplo: la ausencia del cuidado materno, de alimento y de estimulación táctil (Marco et al., 2015). Se ha propuesto a la SM como un modelo idóneo para promover la vulnerabilidad debido a que el desarrollo temprano es un período particularmente sensible a los efectos del estrés crónico, ya que las manipulaciones en esta etapa afectan las funciones cognitivas y emocionales a lo largo de toda la vida (Molet et al., 2014).

Se ha demostrado que la SM promueve alteraciones del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HPA), el cual juega un papel crítico en la respuesta al estrés. A este efecto se relaciona el aumento en los niveles de glucocorticoides en el núcleo central de la amígdala y una reducción en el volumen de la corteza prefrontal (CPF) en la edad adulta (Russo et al., 2012). Además, la SM induce altos niveles de ansiedad y estrés que producen cambios en la tasa de neurogénesis y apoptosis, problemas de memoria en la vida adulta que se acompañan de niveles altos de la citocina proinflamatoria TNF- α (factor de necrosis tumoral-alfa) y una disminución del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en áreas involucradas con el aprendizaje y la memoria (Pinheiro et al. 2015; Albuquerque et al. 2017). También se ha mostrado que existe una disminución de factores neurotróficos y enzimas responsables de la traducción de señales importantes para el aprendizaje y la memoria en la vida adulta (Kaffman y Meaney, 2007). Con ello se sugiere que el estrés en la vida temprana produce muerte neuronal y efectos negativos en la memoria y el aprendizaje

Por otra parte, Romano-López et al., (2016) propone un modelo de SM de 6h, del día posnatal 2 al 14, ya que es un protocolo sumamente adverso que facilita la ingestión de alcohol y drogas en la vida adulta, asimismo, se ha reportado que este protocolo modifica la expresión de

receptores de dopamina (D2 Y D3) en la corteza frontal y el núcleo accumbens de ratas y el crecimiento anormal de las dendritas neuronales. Protocolo que se utilizó en este trabajo de tesis.

En cuanto a las pruebas conductuales, se ha reportado que la SM en rata induce cambios en el consumo de sacarosa (indicador de anhedonia) en la vida adulta (Aya-Ramos et al., 2017). Sin embargo, existen una gran cantidad de protocolos de SM que puede tener diferentes efectos en el consumo de sacarosa a causa de la variabilidad del tiempo en días y horas de exposición que se usa en los diferentes protocolos de SM, por ejemplo, Shalev y Kafkafi (2002) realizaron un protocolo de SM individual de dos periodos de 180 min diarios vs una SM individual de 15 min diarios del día posnatal (DP) 3 al DP14. Los autores no observaron diferencias significativas en el consumo de sacarosa entre grupos. Sin embargo, en el trabajo de Michaels y Holtzman (2007) en el que realizaron un protocolo de SM de 24h en el DP3 y separaciones alternas de 3h y 6h a partir del DP5 al DP12, observaron que el grupo de SM presentaba un aumento en el consumo de sacarosa el DP90. Contrario a esto, se ha reportado disminución del consumo de sacarosa en un protocolo de SM del DP2 al DP14 durante 3h (Masrour et al., 2018).

De la misma forma, se han reportado diversas respuestas en la prueba de campo abierto en protocolos de SM. Algunos estudios reportan efectos ansiogénicos mientras que otros estudios no reportan ningún efecto en la prueba de campo abierto. Tal es el caso de la SM de 3h del DP2 al DP14 que no encontraron diferencias significativas en el tiempo en la periferia (Kuniishi et al., 2017). Contrario a la SM de 4h durante el DP1 al DP21, en el que se muestra un aumento de la actividad locomotora (Wang et al., 2015).

En cuanto a la prueba de nado forzado, se ha reportado que la SM aumenta el tiempo de inmovilidad en la vida adulta (Masrour et al., 2018). De la misma forma, la SM del DP1 al DP14 durante 180 min disminuye el tiempo de escape, aumenta el tiempo de natación y el tiempo de

inmovilidad (Vargas et al., 2017). También se reportó el aumento del tiempo de inmovilidad en ratas jóvenes (DP60) después de un protocolo de SM del DP2 al DP21 durante 180 min por día (Martisova et al., 2012).

Finalmente, 4 h de SM durante el DP1 al DP21 no afecta la interacción social en ratas macho en el DP25, sin embargo, las ratas hembra mostraron un aumento del número de olfateos hacia el sujeto de interacción (Farrell et al., 2016). Por otro lado, Nam et al. (2014) reportaron que la SM del DP2 al DP21, durante 15 o 180 min al día, no tiene efectos en la prueba de interacción social en ratas genéticamente susceptibles al estrés. Lo que demuestra que la SM no induce cambios en comportamientos de ansiedad social. Estos estudios sugieren que el efecto en el cerebro y en las pruebas conductuales de la SM dependen de los días en que se realice la SM y de las horas que las crías pasen separadas de la madre.

2.2.2. *Derrota social (DS)*

Se trata de una prueba estandarizada en la que se crea un conflicto inminente entre dos ratas macho, el residente defiende su territorio frente a un intruso hasta que el intruso es sometido a continuas derrotas por parte del residente, siendo posible medir el comportamiento ofensivo y defensivo en un ambiente seminatural. El modelo de DS también se utiliza para inducir estrés social agudo y crónico desde una perspectiva biológicamente funcional, es decir, el modelo de DS permite observar conductas sociales dirigidas al establecimiento de un territorio, dominio social y defensa de los recursos. Incluso, se ha cuestionado hasta qué punto el bienestar del animal se compromete en la exposición a este paradigma (Koolhaas et al., 2013).

En este sentido, Koolhaas et al. (2013), refieren que ganar una pelea resulta altamente gratificante y, por lo tanto, no hay sufrimiento en el residente. Esto es contrario en el oponente,

quien adopta una posición subordinada en un grupo social. Por lo que, la exposición repetida en combinación con el aislamiento social puede conducir a condiciones que van más allá de la capacidad de adaptación del animal. Se ha reportado que el estrés social inducido por la DS es causa de comportamiento depresivo de larga duración y que al ser comparado con modelos de estrés crónico asemeja situaciones con desafíos sociales (Liu et al. 2017; Riga et al. 2017).

Así, este modelo es óptimo para inducir patologías de estrés con una alta validez ecológica debido a que aborda las consecuencias de los conflictos sociales entre individuos de una misma especie y posibilita el estudio de las estrategias que se desarrollan para permitir la supervivencia (Moreno et al., 2017).

Se ha mostrado que la depresión inducida por DS en ratas adolescentes y adultas conduce a la subregulación específica de genes asociados con el proceso de potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés), proceso inducido por el BDNF, proteína relacionada con la supervivencia, crecimiento, diferenciación de nuevas neuronas y sinapsis. En este sentido, se ha reportado que la DS provoca el aumento de la proteína BDNF en el HPC de ratas jóvenes y la disminución en el HPC de ratas adultas; así como el incremento en Arc (gen de expresión temprana asociado a la plasticidad sináptica dependiente de actividad) y Tieg1 (gen de expresión temprana que reprime la transcripción génica, que regula el crecimiento, desarrollo y diferenciación celular) en el HPC y la CPF de ratas adultas en comparación con las ratas jóvenes (Coppens et al., 2011). Estos datos sugieren que el aprendizaje de una experiencia adversa impacta de manera diferente en la juventud y en la vida adulta.

Además, es de importancia destacar que han encontrado diferentes efectos en las baterías conductuales, según el tipo y la duración de las derrotas. Así, Liu et al., 2017, reportaron que la DS intermitente (5 exposiciones de DS en la semana 1 y 3 y tres exposiciones de DS en la

semana 2) disminuye el consumo de sacarosa, aumenta el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado y no se observa ningún efecto en la prueba de campo abierto. Becker et al. (2008), reportó disminución del consumo de sacarosa y aumento del tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado en un protocolo de DS repetido diariamente durante 4 semanas. Y Rygula et al. (2005), reportaron aumento de la actividad locomotora en el campo abierto (indicador asociado con ansiedad), disminución del consumo de sacarosa y mayor tiempo de inmovilidad en nado forzado a partir de la tercera semana de DS en un protocolo de 5 semanas de DS.

Cabe mencionar que son pocos los trabajos que han realizado la prueba de interacción social y el protocolo de DS en los mismos sujetos. Vidal et al. (2007) reportaron que las ratas tras ser sometidas a un protocolo de DS de 10 min seguido de una hora de alojamiento en conjunto con las ratas residentes pero separados con una reja de metal por cinco días induce ansiedad social en ratas adolescentes, se debe enfatizar, que los autores refieren que los encuentros de las DS fueron muy agresivos. También, Patel et al. (2018) reportaron disminución de tiempo de interacción social en ratas adultas tras ser sometidas a un protocolo de 7 días de DS (durante los días 1, 2 y 4 se realizaron encuentros de DS, mientras que los días 3, 5 y 7 se alojó al residente y al intruso en la misma caja separados por una red durante 50 min). Finalmente, cabe destacar que muy pocos estudios en ratas reportan la prueba de interacción social después de la DS y que ninguno de los autores reporta las conductas agresivas en los encuentros de DS cuando se utiliza como protocolo de estrés.

2.2.3. *Separación maternal con derrota social (SM+DS)*

Los trabajos que describen el efecto de la SM+DS en la vida adulta son escasos y poco concluyentes. Uno de estos trabajos es el de Der-Avakian y Markou (2010), quienes reportaron que la SM mejoró el umbral de recompensa (no anhedonia) en la administración de anfetamina inducida por la estimulación intracraneal del hipotálamo lateral; la DS produjo anhedonia, mientras que la SM+DS mostró un elevado umbral de recompensa (anhedonia). Los autores sugieren que estos datos indican que el estrés en la vida temprana aumenta las propiedades de mejora de la recompensa de la anfetamina y protege contra la anhedonia; y que el estrés en la vida adulta (DS) y su combinación (SM+DS en la vida adulta) puede aumentar la vulnerabilidad de un individuo provocando trastornos depresivos o adictivos.

Existen otros estudios que combinan la exposición a la SM+DS, no obstante, cabe señalar que estos trabajos evalúan el efecto de la SM sobre la DS. Gardner et al. (2005) realizaron dos tipos de SM (SM 180 min vs SM 15 min diarios, ambos del DP2 al DP14) y observaron que la SM aumenta el comportamiento sumiso en ratas. Así mismo, tanto la SM de 180 min como la SM de 15 min aumentaron las células positivas a c-fos (protooncogén cuya expresión está asociada a la plasticidad sináptica dependiente de su actividad), en neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafe dorsal (RD), lo que podría indicar que este núcleo modula las respuestas fisiológicas del estrés social. Posteriormente, Gardner et al. (2009), realizaron estas mismas manipulaciones en la vida temprana y en la vida adulta de la rata y registraron la expresión del ácido ribonucleico mensajero (mRNA por sus siglas en inglés) de la triptófano hidroxilasa 2 (tph2) dentro del RD. Con ello, encontraron un aumento en la expresión de mRNA de la tph2 en ratas con SM de 180 min después de la DS y una reducción de la expresión de la tph2 en ratas con SM de 15 min

después de la DS. Esto sugiere que la combinación de experiencias adversas tiene un efecto diferente a una sola manipulación.

Genty et al. (2018), realizaron un protocolo de SM+DS para observar el efecto de la depresión inducida por estrés en el dolor e inflamación, reportaron una disminución del consumo de sacarosa en el grupo SM, aumentó el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado en los grupos con SM y DS, pero no observaron ninguno de estos en el grupo SM+DS. Este último trabajo es el único que evalúa conductas de tipo depresivas cuando se utiliza un protocolo de estrés en diferentes etapas del desarrollo, sin embargo, no evalúan otros indicadores conductuales de vulnerabilidad como la ansiedad o la interacción social.

2.3. El cerebro en la vulnerabilidad y resiliencia

2.3.1. *Neurofisiología de la vulnerabilidad y resiliencia*

Las estructuras neuronales implicadas en la vulnerabilidad y resiliencia aún se siguen describiendo, sin embargo, en los modelos animales se reporta que la CPFm, el HPC, la amígdala (AMY), el circuito de recompensa y el sistema neuroendocrino participan en la vulnerabilidad y resiliencia (Russo et al., 2012).

Como se mencionó al inicio, el estrés es un factor que está relacionado con la vulnerabilidad y la resiliencia, pues desencadena la activación del eje HPA, lo que genera la producción de glucocorticoides por las glándulas suprarrenales; los receptores para estos esteroides se expresan en todo el cerebro, lo que explica sus efectos sobre diversas conductas. Pueden actuar como factores de transcripción, por lo que tienen efectos potencialmente duraderos en las regiones cerebrales que regulan su liberación (Lupien et al., 2009). En cuanto a la regulación de la vulnerabilidad y la resiliencia, se ha reportado que las ratas vulnerables presentan: habituación alterada del eje HPA con una hipersecreción del factor de liberación de corticotropina (CRF) y bajos niveles del receptor a la hormona liberadora de corticotropina 1 (CRH1); expresión atenuada de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y la presencia de conductas sumisas durante los encuentros de DS. En cambio, los sujetos resilientes muestran una adecuada habituación del eje HPA, es decir, una reducción del CRF, menor liberación de ACTH y conductas proactivas (Wood et al., 2010).

Adicionalmente, se sabe que los sistemas de memoria múltiples del cerebro son fundamentales para mediar la predicción de eventos y sus salidas conductuales. Las conexiones funcionales entre el HPC y la CPF son fundamentales para responder ante una demanda ambiental, ya que el

HPC es esencial para el procesamiento de información del contexto y la CPF es esencial para seleccionar respuestas apropiadas o cambiar las estrategias conductuales (Mizumori y Jo, 2013).

2.3.2. Hipocampo (HPC)

El HPC es una estructura heterogénea a lo largo de su eje dorsoventral, que muestra una red sináptica diferenciada con otras áreas del cerebro, lo que determina su influencia en diferentes funciones (Pacheco et al., 2017). Se ha mostrado que el HPC dorsal (HPCd) y el HPC ventral (HPCv) tienen funciones diferentes. En este sentido, se ha reportado que la memoria espacial parece depender del HPCd y que el HPCv está relacionado con alteraciones en las respuestas de estrés y el comportamiento emocional (Fanselow y Dong, 2010).

Por otro lado, el HPC tiene una estructura laminar a lo largo de todo su eje dorsoventral, caracterizado por un circuito glutamatérgico trisináptico bien definido, en el que la corteza entorrinal es la principal fuente de entrada. El flujo de información a través del HPC se inicia en el giro dentado (GD), procede a CA3 y luego a CA1. A su vez, CA1 y el subículo se proyectan hacia las capas profundas de la corteza entorrinal. Si bien esta red clásica trisináptica participa en los procesos de memoria y aprendizaje, la evidencia actual revela un circuito alternativo en el que las neuronas del GD también proyectan a CA2, que a su vez se conecta a las células piramidales CA1 (Kohara et al., 2014 citado en Pacheco et al., 2017).

Curiosamente, este circuito establece una conexión directa entre el HPCd y el HPCv que recibe una vía para modular áreas cerebrales vinculadas a CA1 ventral; como la CPF y la AMY basolateral (Kohara et al., 2014 citado en Pacheco et al., 2017). Además, los estudios de comportamiento han revelado que los circuitos de CA2 son cruciales para los aspectos sociales, temporales y probablemente emocionales de la memoria (Pacheco et al., 2017).

El HPC es una estructura cerebral densamente poblada con receptores de hormonas del estrés y glucocorticoides capaces de inhibir la neurogénesis (Snyder et al., 2011). Se ha descrito que la reducción del volumen del HPC está asociado con estados depresivos y de ansiedad (Lin y Wang, 2014; Kalman y Keay, 2017).

También se ha encontrado un aumento del mRNA del receptor metabotrópico a glutamato 5 (mGluR5) regulado por los receptores de glucocorticoides (GR) y el receptor a cannabinoide tipo 1 (CB1) en el HPC de ratas susceptibles, pero no en ratas resilientes. El sistema glutamatérgico se ha relacionado con la capacidad de respuesta al estrés y la regulación del eje HPA, niveles altos de glutamato probablemente provocan cambios en los transportadores de glutamato necesarios para la recaptación, modificando su función, mientras que la sobreexpresión de la proteína CB1 se ha implicado en patologías mentales, incluyendo la depresión, la esquizofrenia y el trastorno bipolar (Sun et al., 2017).

2.3.3. *Corteza prefrontal (CPF)*

La CPF en ratas se puede subdividir en dos grandes áreas: medial (CPFm) y ventral (CPFv) o corteza orbitofrontal (COF). La CPFm incluye áreas definidas cito arquitectónicamente como el área frontal 2 (Fr2), área cingulada anterior dorsal (ACd), las áreas prelímbica (PrL) e infralímbica (IL). Mientras que la COF incluye su parte medial y ventral. De acuerdo con la conectividad interregional, la CPFm, además, se puede dividir en dos subáreas: la CPFm dorsal, que corresponde al Fr2 y ACd, mientras que la CPFv, corresponde a las áreas prelímbica e infralímbica. Con respecto a la conectividad talamocortical y cortico-cortical, la CPFm dorsal está conectada recíprocamente a la parte lateral del núcleo talámico dorsal medial (DM) y está conectada recíprocamente a las cortezas occipital, parietal y retrosplenial; mientras que la CPFm

ventral está conectada recíprocamente a la parte medial del núcleo DM y a la corteza rinal; además, también recibe inervaciones del HPC y la AMY (Gibb 2015; Tsutsui et al. 2016).

Dentro de los hallazgos de la CPF en la vulnerabilidad y resiliencia, se ha descrito que la CPFm reprime el eje HPA principalmente a través de proyecciones inhibitorias procedentes de la corteza PrL, IL y el cíngulo anterior (CAC; Russo et al., 2012). Las sinapsis excitadoras de una población de neuronas de la CPFm están fortalecidas en ratones que muestran desamparo aprendido, mientras que, en sujetos resilientes, están debilitadas (Wang et al., 2014). Además, se ha descrito que las proyecciones de la CPFm hacia el área tegmental ventral (VTA) están asociadas con conductas no sociales, mientras que las proyecciones del núcleo accumbens (NAcc) a la CPFm se relacionan con conductas sociales (Gunaydin et al., 2014). También se ha demostrado que la CPF de una amplia gama de mamíferos desempeña un papel en el control del comportamiento social y la regulación emocional (Kolb y Gibb 2015 y Goodell et al. 2017).

Dado los antecedentes presentados en este apartado, el HPC y la CPFm son estructuras importantes para afrontar el estrés y el control de conductas que están involucrados en trastornos de ánimo, ansiedad e interacción social (Dranovsky y Leonardo 2012 y Wang et al. 2014), por lo que podrían estar asociadas al moldeamiento de conductas vulnerables y resilientes.

2.3.4. *Plasticidad sináptica en la vulnerabilidad y resiliencia*

La plasticidad sináptica es un fenómeno fisiológico que induce patrones específicos de actividad neuronal, sostenidos por mecanismos químicos y moleculares, que dan origen a cambios en la eficiencia sináptica, en la excitabilidad y morfología neuronal y que además perdura por más tiempo que los eventos que los originaron (Leff et al., 2004). En otras palabras,

es la propiedad del cerebro de modificación neuronal generada por la experiencia (Citri y Malenka, 2008).

Se han reportado cambios en la plasticidad sináptica ante experiencias estresantes, por ejemplo: cambios en la arborización dendrítica, en la densidad dendrítica y en el número de sinapsis en el HPC, la AMY, la CPF y el sistema neuroendocrino; paralelo a estos cambios, también ocurren efectos sobre la cognición, la regulación emocional y los comportamientos de autorregulación (McEwen y Gianaros 2011; Días-Ferreira et al. 2009; Danielewicz y Hess 2017).

En este contexto, se ha encontrado una reducción pronunciada de calbindina (proteína encargada del transporte intracelular del calcio) en la corteza OC de ratas resilientes (Varga et al., 2017). Además, se ha observado la disminución de *c-fos*, *zif268* y *Arc* en sujetos clasificados clínicamente como deprimidos en la ACd y en la CPFm de ratones sometidos a DS (región que muestra homología funcional con la ACd del humano). Dichas moléculas son importantes mediadores de plasticidad sináptica. Así mismo, la estimulación optogenética en la CPFm promueve la resiliencia y un aumento en las células positivas a *c-fos* en la CPFm, sugiriendo que la plasticidad sináptica dependiente de la actividad en la CPFm revierte estados depresivos (Covington et al., 2010).

También es ampliamente aceptado que la neurogénesis del HPC está implicada en comportamientos asociados con conductas antidepresivas. En este sentido, Dranovsky y Leonardo (2012) proponen que una de las funciones del HPC es modular la respuesta al estrés. Se ha demostrado que el estrés en la vida temprana induce altos niveles de acetilación de las histonas H3 y H4 que están relacionadas con el aumento de *Arc* y *Egr1* (gen de expresión temprana relacionado con la actividad neuronal) en el HPC de ratón (Xie et al., 2013). Además, la

supresión del microRNA 124a en el HPC produce efectos antidepresivos en ratas sometidas a DS (Bahi et al., 2014).

A pesar de que los estudios sobre el papel que juega la plasticidad sináptica en la vulnerabilidad y resiliencia comienzan a ser explorados (Russo et al., 2012), aún no se tienen claros los mecanismos neuronales involucrados en la vulnerabilidad y resiliencia y menos aún cómo, la plasticidad sináptica se relaciona en la vulnerabilidad y resiliencia.

2.3.5. *Gen de expresión temprana c-fos*

Se ha reportado que los genes de expresión temprana (IEGs, por sus siglas en inglés) son componentes críticos de procesos de plasticidad sináptica subyacentes a la memoria a largo plazo. Los IEGs se definen como aquellos genes en los que la transcripción puede inducirse en presencia de inhibidores de síntesis de proteína. Es decir, para que se expresen no requieren síntesis de proteínas de *novo*, ni activación previa de ningún otro gen (Miyashita et al., 2008). Tradicionalmente, los IEGs se han utilizado como marcadores de la actividad neuronal en respuesta a fármacos o frente a estados conductuales, como la motivación y el reforzamiento (Chandra y Lobo, 2017).

El gen *c-fos* es un protooncogén (genes que regulan el crecimiento y la diferenciación celular) que pertenece a la familia de IEGs, cuyo producto regula positivamente el ciclo celular, promueve el crecimiento y la división celular (Prober y Edgar, 2001 citado en Ferrer, 2010); Localizado en el cromosoma 14q21-q31 (Barker et al., 1984 citado en Pla, 2010). Se encuentra conformado por una estructura de 4 exones y 3 intrones que abarca alrededor de 9 kilobyte y codifica una proteína de 380 aminoácidos cuyo tamaño oscila entre 55-62 kilodalton, todo esto conservado entre especies (Herdegen y Leah, 1998 citado Pla, 2010).

Generalmente, la cinética de respuesta de Fos a un estímulo agudo es transitoria, con un pico del ARNm de *c-fos* aproximadamente a los 30 min y de la proteína c-fos entre 90-120 min. Los niveles proteicos decrecen rápidamente, ya que la proteína es altamente inestable y se degrada por proteasoma, complejo multiproteico cuya función es la degradación enzimática de proteínas (Kovacs, 2008 citado en Pla, 2010).

Fue identificado por primera vez a principios de 1980 y su producto se caracterizó en 1984 como una proteína nuclear con propiedades de activador génico que participa en mecanismos a largo plazo asociados con la estimulación neuronal, dichos cambios conducen a cascadas de señalización de segundos mensajero que induce la expresión del gen *c-fos*, que a su vez induce la producción del factor de transcripción c-fos (que pertenece a la familia de factores de transcripción activador de proteína 1 (AP-1)), que forma un complejo con otros IEGs para actuar en sitios específicos del ADN con el fin de activar o inhibir en respuesta a diferentes estímulos, esté último inicia la expresión de genes tardíos y por tanto participa en respuestas adaptativas del sistema nervioso a muchos tipos diferentes de estímulos (Ver figura 1), así, a finales de 1980 la detección de proteínas c-fos se ha utilizado para estudiar los efectos de factores exógenos en la transcripción génica en general y para mapear vías neuronales involucradas en diferentes condiciones fisiológicas (Perrin-Terrin et al., 2016 y Pla, 2010).

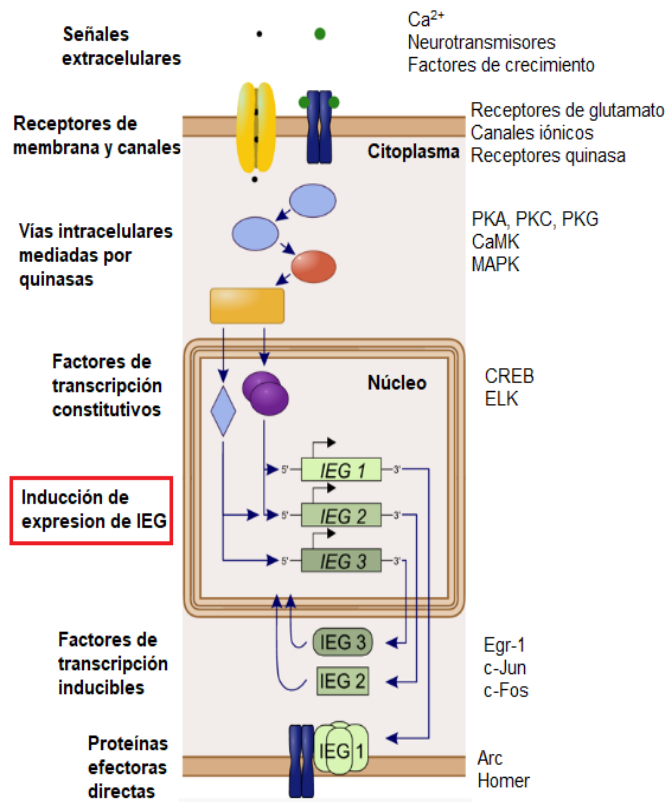


Figura 1. Tomada y adaptada de Sommerlandt et al. (2019). Esquema cascado de activación intracelular de genes de expresión temprana. Del lado izquierdo se muestra la cascada de activación intracelular y del lado derecho se observan ejemplos de moléculas involucradas. Las señales extracelulares se activan a través de receptores de membrana y canalizan una serie de vías intracelulares, las quinasas median la activación de factores de transcripción expresados constitutivamente que inician la expresión de IEG, los productos proteicos de los IEG pueden actuar como factores de transcripción inducibles para orquestar la expresión de genes posteriores o proteínas efectoras directas con implicaciones fisiológicas.

Se han descrito diversos mecanismos moleculares y celulares de la “activación de promotores” (secuencias de ADN necesarias para convertir un gen en activado o inactivado) asociados a *c-fos* en el cerebro, especialmente en modelos inducidos por fármacos y que estudian el sistema de recompensa. En este sentido, Cruz et al., 2015 realizaron una revisión sobre el uso de *c-fos* para estudiar circuitos cortico estriales y reportaron que la “activación del promotor *c-fos*” (que se refiere a que los niveles de expresión de *c-fos* se determina por la activación molecular y celular para inducir la transcripción) está mediada principalmente por la activación dependiente de calcio de la vía quinasa ERK/MAPK (Proteínas quinasas activadas por mitógenos).

La vía ERK/MAPK forma parte de un importante grupo de vías de transmisión de señales extracelulares que incluyen hormonas, mitógenos, factores tróficos y de crecimiento, citoquinas inflamatorias y diversas formas de estrés celular (osmótico, redox, radiación, etc.), y participan en el control de la expresión génica por receptores de membrana, regulando procesos tan

importantes como proliferación, diferenciación y transformación celulares, desarrollo, apoptosis e inflamación crónica (Picatoste y Claro, s. f.).

Así, la actividad neuronal asociada a *c-fos* en modelos de recompensa, inicia con la entrada de calcio a través de receptores NMDA y canales de calcio sensibles al voltaje de tipo L (VSCC) para activar una variedad de moléculas dependientes de calcio, incluida Ras-GRP, que median la activación dependiente de calcio de la Ras/Raf quinasa, vía que fosforila y activa ERK/MAPK. Una vez fosforilada se transloca al núcleo donde puede fosforilar factores de transcripción Elk-1 y CREB (a través de RSK: ribosomal S6 quinasa) en el promotor *c-fos* (Ver figura 2). Siendo los componentes más críticos de la “activación del promotor *c-fos*” el elemento de respuesta sérica (SER) y el elemento de respuesta de calcio (CaRE), donde las proteínas del factor de transcripción, factor de respuesta sérica SRF y Elk-1, se unen constitutivamente como un complejo SER, mientras que CREB debe fosforilarse para activar el *c-fos*promotor (Cruz, et al., 2015).

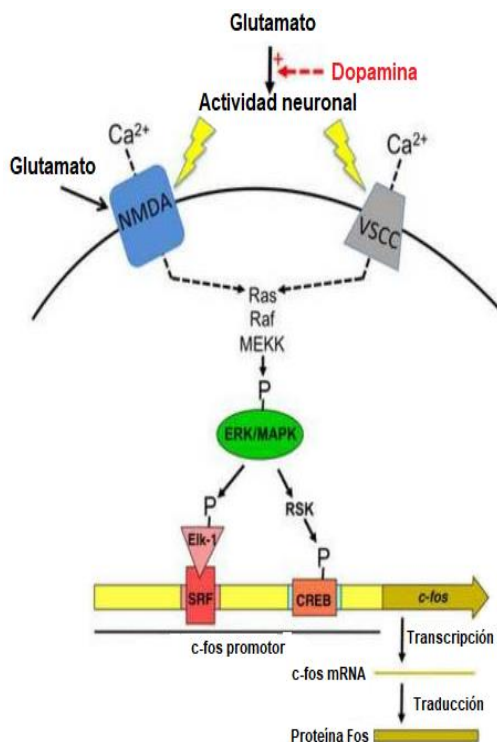


Figura 2. Tomada y adaptada de Cruz, et al., (2015). Esquema para ilustrar la neuroquímica y los mecanismos de la expresión de *c-fos* en neuronas fuertemente activadas. El glutamato, principal neurotransmisor excitador, aumenta la actividad neuronal. La dopamina (flecha roja y signo +) mejora la activación neural mediada por glutamato. La actividad neuronal persistente induce calcio (Ca^{2+}), fluye a través de receptores de glutamato de tipo NMDA y canales de calcio sensibles al voltaje (VSCC) a niveles que son suficientes para fosforilar y activar ERK/MAPK a través de la vía Ras-Raf-MEKK. La activación de ERK/MAPK conduce a la fosforilación de Elk-1 que está asociada con el factor de respuesta sérica (SRF), así como a la fosforilación de CREB a través de la quinasa S6 ribosómica (RSK). Elk-1 / SRF y CREB son factores de transcripción que, cuando se fosforilan, pueden inducir la transcripción de la secuencia de codificación para *c-fos*. El ARNm de *c-fos* transcrito y el producto de proteína traducido Fos pueden usarse como marcadores de neuronas fuertemente activadas.

De acuerdo con esto, el análisis de c-fos ha demostrado ser una herramienta útil para la cartografía de las vías celulares y funcionales que intervienen en los procesos emocionales y respuestas neuroendocrinas al estrés agudo y al estrés crónico heterotípico (Febbraro et al., 2017). Por ejemplo, se ha demostrado que existen diferentes patrones de activación de c-fos cuando los animales se exponen a un solo encuentro de DS que cuando los animales son expuestos a repetidos encuentros de DS, por lo que c-fos es un marcador genético de neuronas activadas, cuya expresión puede ser inducida de manera diferencial en regiones del cerebro que participan en respuesta al estrés de DS (Martínez et al. 2002).

También, se ha reportado que la expresión elevada de c-fos es un sello distintivo de neuronas que están implicadas en procesos de plasticidad sináptica inducida por el aprendizaje (Kaczmarek et al., 2002). Por ejemplo, Tonegawa et al. (2015) mostraron que la estimulación optogenética en la AMY revierte el efecto de la amnesia inducida por inhibidores de síntesis de proteínas en ratones, ya que dicha estimulación reactiva el engrama de memoria (que se refiere a los cambios físicos y/o químicos duraderos que fueron provocados por el aprendizaje y subyacentes a las asociaciones de memoria recién formadas) que había sido capturado previamente mediante la expresión de c-fos. Esto demuestra que c-fos está implicado en la formación de los engramas de memoria y que es un marcador adecuado para evaluar la plasticidad sináptica dependiente de actividad (Gore et al. 2015; Tonegawa et al. 2015).

Además, Cohen et al., (2018) mostraron que genes como *BDNF*, *c-fos* y *Arc* ayudan a formar recuerdos espaciales a largo plazo basados en experiencias, al comparar la memoria espacial de ratones knockout (ratones genéticamente modificados) que carecía de la proteína quinasa II dependiente de calcio/gamma calmodulina (gamma-CaMKII) con ratones normales, reportando que los ratones “knockout gamma-CaMKII” eran mucho menos capaces de localizar la

plataforma oculta debajo de la superficie de agua en el laberinto de Morris, observando además un aumento no significativo en la expresión de *BDNF*, *c-fos* y *Arc*, mientras que los ratones normales durante esta misma prueba identificaron rápidamente la ubicación de la plataforma y una hora después del entrenamiento del laberinto en los ratones normales se observó un aumento significativo en la expresión *BDNF*, *c-fos* y *Arc*. Mostrando en estos estudios que *c-fos* es una herramienta útil para asociar su actividad a una conducta específica que involucra el uso de habilidades como la memoria y el aprendizaje.

3. Planteamiento del problema

3.1. Justificación

Anteriormente se ha puntualizado que, para que un sujeto sea vulnerable o resiliente se requiere de la interacción de múltiples factores que van desde la genética hasta las experiencias previas del sujeto (Manciaux et al. 2001; Madariaga 2014 y Daskalakis et al. 2013). En este sentido, se ha mostrado que las experiencias adversas en diferentes etapas del desarrollo impactan de modo diferencial en el sistema neuronal (Coppens et al., 2011). Sin embargo, son pocos los trabajos experimentales que integran el papel que tienen las experiencias aversivas de tipo social en diferentes etapas de la vida. Por ejemplo, Der-Avakian y Markou (2010) y Gardner et al. (2005, 2009), evalúan el efecto de la SM sobre la DS y el consumo de anfetamina en la vida adulta, aunque no evalúan conductas vulnerables con base en otros dominios conductuales, por ejemplo, la motivación, la ansiedad y la interacción social.

Por otra parte, el estudio de los mecanismos cerebrales de la vulnerabilidad y resiliencia no son claros y se siguen explorando; por ejemplo, se ha reportado que las proyecciones del HPC a la CPFm podrían estar involucradas en el afrontamiento de estímulos aversivos, el control de conductas ante la demanda ambiental y la regulación de los trastornos de ánimo y ansiedad (Russo et al. 2012; Dranovsky y Leonardo 2012; Wang et al. 2014). También se ha visto que la expresión diferencial de mecanismos asociados con plasticidad sináptica en la CPFm y el HPC de ratas podría estar relacionada con promover sujetos vulnerables o resilientes (Covington et al. 2010; Vargas et al. 2017; Dranovsky y Leonardo 2012 y Xie et al. 2013). Estos estudios sólo reportan el efecto de una sola condición adversa bajo tareas que miden el nivel de interacción social, depresión o ansiedad.

Finalmente, se ha mostrado que el gen de expresión temprana c-fos es una herramienta útil para asociar su actividad a una conducta específica, ya que permite marcar la cartografía de vías celulares y funcionales que intervienen en procesos emocionales, respuestas neuroendocrinas al estrés y observar neuronas que están implicadas en procesos de plasticidad sináptica inducida por el aprendizaje (Kaczmarek et al., 2002; Febbraro et al., 2017; Martinez et al., 2002 y Cohenn et al., 2018).

A pesar de lo reportado, no hay estudios que integren el impacto que tiene una experiencia adversa en la vida temprana, en la vida adulta o su combinación y, además, reporten el efecto que tienen estas manipulaciones en indicadores de neuronas implicadas en procesos de plasticidad sináptica.

3.2. Preguntas de investigación

- ¿Cuál es el efecto del estrés social en el desarrollo temprano en la vida adulta y su combinación en la formación de sujetos vulnerables?
- ¿Cuál es el efecto del estrés social en el desarrollo temprano en la vida adulta y su combinación en las células positivas a la proteína de c-fos en la corteza prefrontal medial y el hipocampo dorsal asociado a la prueba de interacción social?

3.3. Objetivos

3.3.1. *General*

Evaluar en ratas macho de la cepa Wistar, si la separación maternal en el desarrollo temprano, la derrota social leve en la vida adulta y la separación maternal en el desarrollo temprano en combinación con la derrota social leve en la vida adulta promueven conductas vulnerables y modifican la actividad de c-fos en la corteza prefrontal medial y el hipocampo inducida por la prueba de interacción social.

3.3.2. *Específicos*

- Evaluar si la SM promueve conductas vulnerables en la vida adulta de las ratas.
- Evaluar si la DSL en el adulto promueve conductas vulnerables de las ratas.
- Evaluar si la SM+DSL promueve conductas vulnerables en el adulto en comparación con sólo la SM o solo la DSL.
- Evaluar la activación neuronal inducida por la interacción social en la CPFm y el HPCd de ratas sometidas a SM, DSL en el adulto o SM+DSL en el adulto mediante la cuantificación de c-fos.

3.4. Hipótesis

3.4.1. Generales

H1: La SM, la DSL en el adulto y la SM+DSL, promoverá conductas vulnerables en la vida adulta de las ratas.

H2: Se observará una disminución de la activación neuronal de la proteína de c-fos inducida por la prueba de interacción social en la CPFm y el HPCd en los grupos con las condiciones SM, DSL en el adulto o SM+DSL.

3.4.2. Específicas

H1: La SM en ratas macho de la cepa Wistar promoverá conductas vulnerables.

H2: La DSL en ratas macho adultas de la cepa Wistar promoverá conductas vulnerables.

H3: La SM+DSL en ratas macho adultas de la cepa Wistar promoverá conductas vulnerables en comparación con sólo la SM o sólo la DSL en ratas.

H4: La activación de c-fos inducida por la prueba de interacción social se verá disminuida en la CPFm y el HPCd de ratas macho de la cepa Wistar que fueron expuestas a estrés social en el desarrollo temprano y en la adultez.

4. Materiales y método

4.1. Animales

Las ratas fueron manejadas acorde con la Norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999, con especificaciones técnicas para la producción, alojamiento, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Se adquirieron del bioterio de la Facultad de Psicología, UNAM, 15 ratas hembra de la cepa Wistar con una edad de dos a tres meses, preñadas con 18 días de gestación, bajo un ciclo de luz oscuridad de 12:12 (9:00h a 21:00h) con agua y alimento ad libitum. Las hembras fueron alojadas en jaulas individuales hasta el nacimiento de las crías; en el DP1 se marcó a las crías macho; en el DP3 se redujo la población a ocho crías por rata hembra (n=8) para el control del cuidado y alimento de las crías. En la edad adulta se utilizaron algunas de las crías para el protocolo de DSL. Además, se adquirieron 5 ratas macho sementales de la cepa Long Evans del bioterio del Instituto de Fisiología Celular, UNAM y 4 ratas macho de la cepa Wistar de la Facultad de Psicología, con las siguientes características, un peso de entre 400-500g, de aproximadamente cuatro o seis meses de edad que fueron utilizadas como ratas residentes. Estos fueron alojados de manera individual para la DSL y 8 ratas macho de la cepa Wistar de 250-350g de peso de dos a tres meses, alojados individualmente y que fueron usados como sujetos de interacción social.

4.2. Tipo de estudio y grupos experimentales

Se realizó un estudio de tipo experimental con una dimensión temporal longitudinal. Se realizaron los siguientes grupos experimentales: 1) Control (C), sin SM ni derrota social; 2) Separación maternal (SM), sin derrota social; 3) derrota social leve (DSL), sin SM; 4) Separación maternal con derrota social leve en el adulto (SM+DSL). Para el análisis de c-fos se reportaron las mismas condiciones experimentales, más el grupo de control de caja (CC), que no tuvo ninguna manipulación experimental (Ver figura 3).

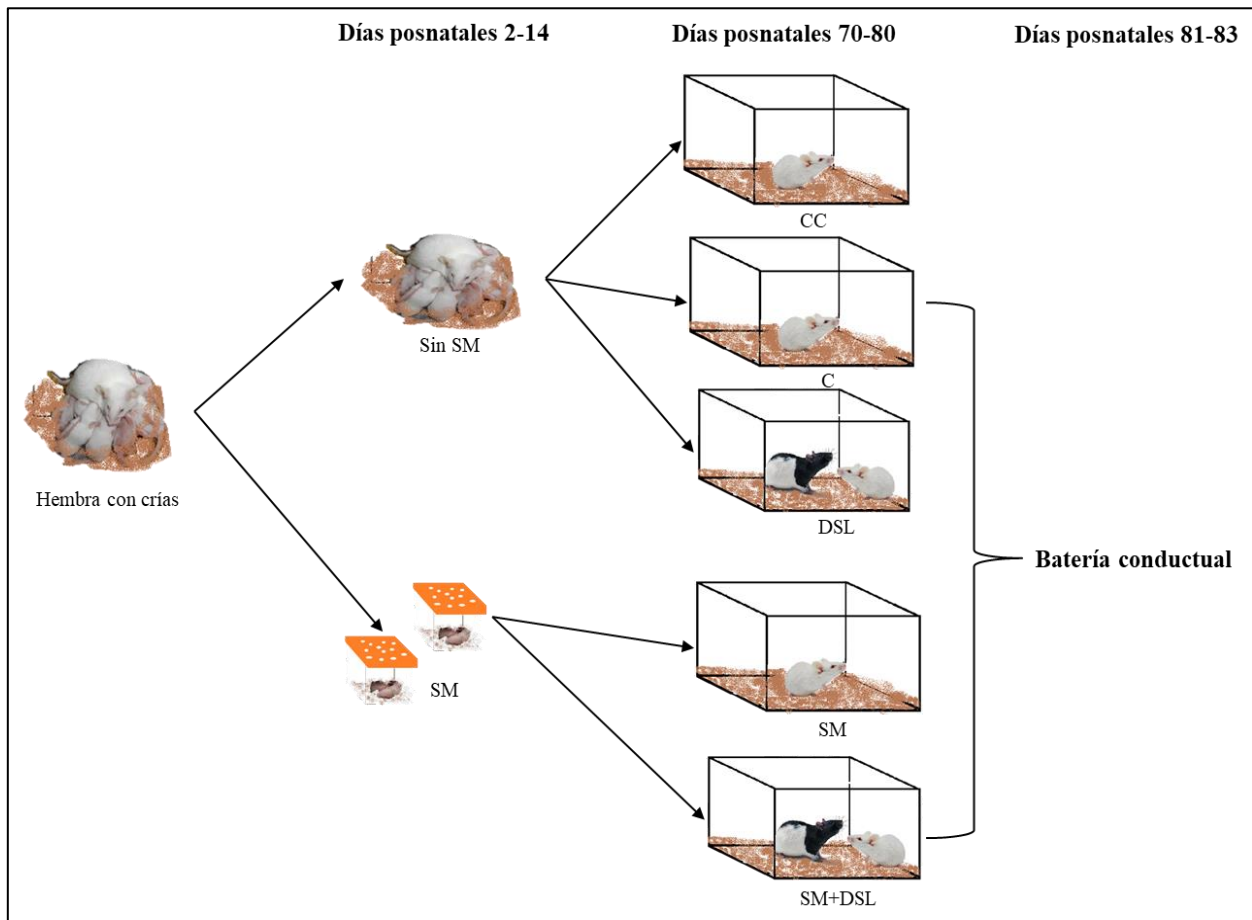


Figura 3. Esquema de grupos experimentales. Se muestran los grupos experimentales que derivaron de las manipulaciones que se realizaron.

4.3. Procedimiento experimental

El día de nacimiento se tomó como el DP0 y se procedió a sexar y marcar a las crías en el DP1. La SM se realizó del DP2 al DP14; el DP3 se redujo la población de las camadas a un total de 8 crías por hembra para homogeneizar el cuidado materno y la disponibilidad del alimento de las crías. Las crías fueron destetadas en el DP21 y trasladadas a otro bioterio en el DP45, su habituación tuvo lugar del DP 45 al 68. Los encuentros de DSL se llevaron a cabo del DP70 al DP80, así mismo, las ratas fueron pesadas antes y después de las DSL. Al finalizar la DSL fueron evaluadas a través de una batería conductual que consistió en la prueba de preferencia de sacarosa (antes y después de la DSL en el DP69 y DP81), campo abierto y nado forzado en el DP82. Finalmente, en el DP83 fueron sometidas a la prueba de interacción social y sacrificadas una hora y veinte minutos después de la prueba. Los animales controles fueron manipulados en el cuarto experimental y evaluados de la misma forma que los animales experimentales (Ver figura 4).

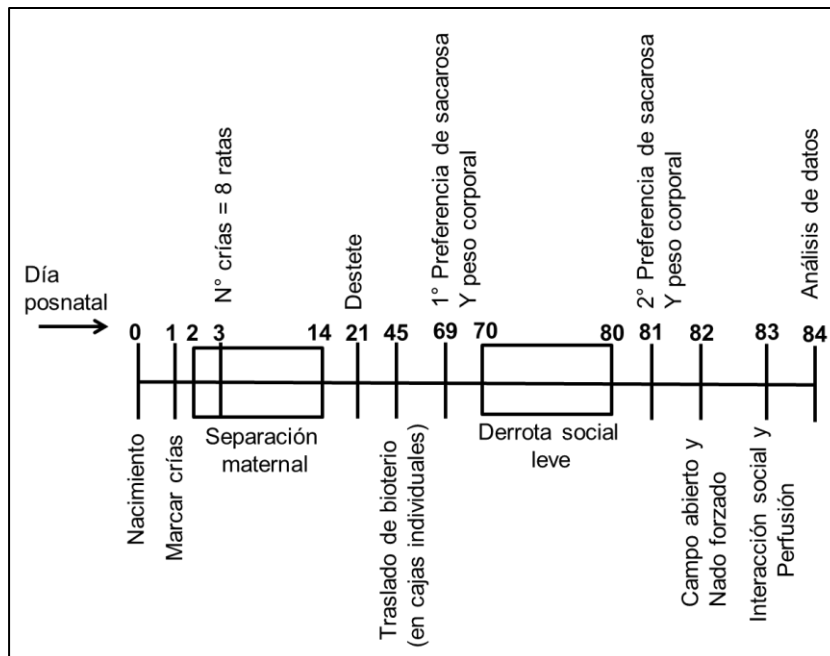


Figura 4. Esquema de diseño experimental. Se muestra la línea de tiempo donde se esquematiza las manipulaciones durante todo el procedimiento experimental.

4.3.1. Marcaje de crías

En el DP1, las crías se trasladaron en un recipiente de plástico previamente preparado con gasas, torundas de algodón y un poco de aserrín de su nido, al laboratorio donde se colocaron en un cojín térmico para contabilizar y secar a las crías. Se tomó la mitad de la población de machos para marcarlas mediante un corte de una porción del extremo de la cola con tijeras quirúrgicas. Finalmente, se cauterizaron las heridas, se limpió cualquier rastro de sangre y se devolvieron a su nido.

4.3.2. Separación maternal

El protocolo de SM se realizó como se describió anteriormente por Romano López et al. (2016). Se llevó a cabo en el bioterio de posgrado de la Facultad de Psicología de la UNAM, del DP2 al DP14 y consistió en separar a las crías por pares en un contenedor de plástico con etiqueta de identificación. El fondo del contenedor contenía una gasa, algodón y un poco de aserrín del nido de la cría. El contenedor de las crías se colocó sobre un cojín térmico automático en el nivel 1 con un rango de temperatura que oscilaba entre los 35.9- 36.5°C (Ver figura 5). La SM se realizó dos veces al día, de 9:00 a 12:00 h y de 15:00 a 18:00 h. Al finalizar cada separación se regresaron las crías a su nido y se guardaron los contenedores y el cojín térmico en bolsas plásticas dentro del laboratorio. El día DP45, se trasladaron a los machos al viario del edificio B de la Facultad de Psicología de la UNAM para su habituación (P45-P69).

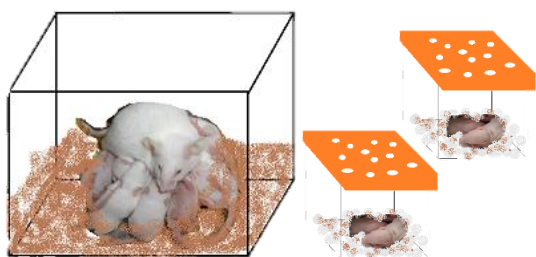


Figura 5. Protocolo de separación maternal. El protocolo de SM consistió en separar a las crías por pares en un contenedor de plástico previamente preparado con torundas de algodón y aserrín de su nido desde el DP2 al DP14.

4.3.3. *Derrota social leve*

El protocolo de DSL se realizó, como se describió anteriormente por Koolhaas et al. (2013), con modificaciones menores. Los encuentros se realizaron en el aula B19 de la Facultad de Psicología de la UNAM y tuvieron una duración de 10 min, durante 10 días, con la luz apagada. Se llevaron a cabo del DP70 al DP80, todas las ratas fueron pesadas con una balanza electrónica (SE-200) antes y después de los encuentros. Cada encuentro fue cuantificado con un cronómetro (Sportline) y las sesiones fueron grabadas (Logitech webcam C920) y calificadas de acuerdo con Koolhaas et al. (2013), (Ver la tabla 1). Una vez montado el equipo de videograbación se trasladó a la rata residente en su caja cubierta con una franela al cuarto donde se dieron los encuentros donde tuvo 15min de habituación. Posteriormente se trasladó a la rata intrusa o experimental en una caja diferente a la suya cubierta con una franela y se introdujo a la caja de la rata residente para el encuentro; si el encuentro era demasiado agresivo, la rata experimental era retirada de la caja del residente (Ver figura 6).



Figura 6. Encuentro de DSL. Fotografía de un encuentro de DSL con la luz apagada, donde se muestra en el lado izquierdo la rata intrusa o experimental de cepa Wistar en posición sumisa y del lado derecho a la rata residente de cepa Long Evans en posición de ataque.

MANIPULACIÓN EXPERIMENTAL	Derrota social leve			
INDICADOR	Permite estudiar el comportamiento defensivo y el estrés social utilizando al intruso como animal experimental.			
DÍA EN QUE SE HACE	DP70 al DP80			
DURACIÓN	10 min			
CONDUCTAS	Conductas ofensivas	Conductas defensivas	Exploración social	Exploración no social
QUÉ MIDEN	Respuestas agresivas por parte del residente que consiste en las conductas de boxeo, ataque, amenaza lateral y movimiento del aserrín.	Respuesta a los ataques del residente que consiste en posturas sumisas, inmovilidad y alejarse del residente.	Suma de olfateo anogenital y conducta social dirigidos como juego y acicalamiento mutuo.	Conductas de exploración dirigidas a la caja del residente.
UNIDAD DE MEDICIÓN	Duración.	Duración.	Duración.	Duración.

Tabla 1. Se muestran todos los indicadores conductuales y detalles del protocolo de DSL que se tomaron en cuenta. Tomado y modificado de Koolhaas et al. (2013).

4.4. Pruebas

4.4.1. *Preferencia de sacarosa*

La prueba de preferencia de sacarosa se realizó como lo describen Patki et al. (2014), con modificaciones menores (Ver tabla 2). Se utilizó como un indicador de anhedonia y se llevó a cabo en el DP69 y DN81 de la rata, es decir, antes del protocolo de DSL y al día siguiente de finalizar la DSL. Para ello, se requirió de dos bebederos graduados de 100 ml (Ver figura 7) por animal con la etiqueta de información correspondiente para cada rata: uno de los bebederos contenía agua potable y la otra agua con sacarosa al 1%. Posteriormente, se colocaron ambos bebederos en las cajas de cada rata con el fin de medir el consumo de líquido a la hora, a las cuatro y veinticuatro horas después de la colocación de los bebederos.

PRUEBA	Preferencia de sacarosa
INDICADOR	Evalúa la anhedonia inducida por el estrés en roedores.
DÍA EN QUE SE HACE	DP69 y DP81 (24 horas antes y después de inducir estrés por DS)
DURACIÓN	Dos días, tres mediciones (1h, 4h y 24h)
CONDUCTAS	Consumo de sacarosa.
QUÉ MIDEN	Consumo reducido de sacarosa se considera un signo de comportamiento depresivo.

Tabla 2. Se muestran los indicadores y detalles que se tomaron en cuenta en la prueba de preferencia de sacarosa. Tomado y modificado de Patki et al. (2014).



Figura 7. Fotografía de la prueba de preferencia de sacarosa. Se muestra la colocación de los bebederos en la prueba de preferencia de sacarosa, uno de ellos contiene agua con sacarosa al 1% y el otro contiene solo agua.

4.4.2. *Campo abierto*

La prueba de campo abierto se realizó como se describió anteriormente por Boyko et al. (2015) y Kuniishi et al. (2017), con modificaciones menores. Se utilizó una caja acrílica negra de 1x1m de área, dividida en 25 cuadrantes de 20 x 20 cm, con el centro y el cuadrante de inicio previamente marcados con un círculo rojo (Ver figura 8). La prueba tuvo una duración de 5 min y fue grabada con una cámara (Logitech webcam C920). Las sesiones se calificaron de manera automática a través de un software realizado en Matlab en el que se elaboró una interfaz de GUI en la cual se realizó un análisis de seguimiento de marcha de los roedores, discriminando a los roedores del campo abierto con un centroide en su cuerpo, todo esto fue validado con calificaciones manuales en el laboratorio (Ver tabla 3). La prueba se realizó en un cuarto oscuro iluminado por una lámpara previamente colocada para evitar el reflejo. Se realizó un día después de la segunda preferencia de sacarosa. Una vez que se inició la grabación se mostró la fecha de identificación de la rata, posteriormente se introdujo la rata en el centro del campo y se tomó el tiempo con un cronómetro (Sportline), al tiempo que el experimentador inició el registro en la 'hoja de registro'. Una vez finalizada la prueba, la rata fue devuelta al interior y se limpió el campo abierto con agua con cloro y sanitas para eliminar los rastros de olores.

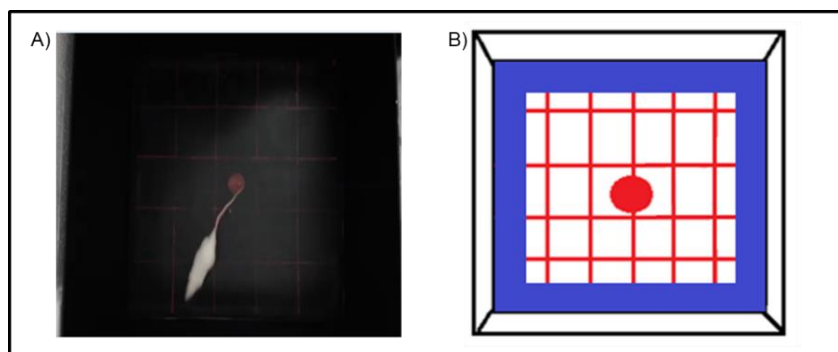


Figura 8. (A) Fotografía de campo abierto. Se muestra una fotografía real del campo abierto con un sujeto experimental. (B) Se muestra un esquema de campo abierto donde se señala la zona centro de color rojo y zona en periferia de color azul.

PRUEBA	Campo abierto	
INDICADOR	Evalúa el comportamiento exploratorio y de ansiedad en animales de laboratorio y las respuestas conductuales a la novedad.	
DÍA EN QUE SE HACE	DP82, 24 h después de la prueba de preferencia de sacarosa	
DURACIÓN	5 min	
CONDUCTAS	Tiempo en el centro	Tiempo en la periferia
QUÉ MIDEN	Comportamiento de exploración.	Comportamiento relacionado con ansiedad

Tabla 3. Se muestra todos los indicadores conductuales y detalles que se tomaron en cuenta en la prueba de campo abierto. Tomado y modificado de Boyko et al. (2015); Kuniishi et al. (2017).

4.4.3. *Nado forzado*

La prueba de nado forzado se realizó como se describe anteriormente por Boyko et al. (2015) con modificaciones menores. Esta prueba se llevó a cabo quince minutos después de la prueba de campo abierto, en un contenedor negro (Ver figura 9) con agua a temperatura ambiente (22°C). Una vez preparado el material, la rata se introdujo en el centro del contenedor. La prueba tuvo una duración de 5 min que fue grabado con una cámara de celular (Moto E, con vídeo de 720p, 30 fps; (MPEG4, H.264)). Al finalizar la prueba se retiró a la rata del agua, se secó superficialmente con una franela para evitar que se enfermara y se devolvió a su caja. Finalmente, las sesiones fueron calificadas (Ver tabla 4) de manera manual como sugieren Patki et al. (2014); Boyko et al. (2015); Cryan et al. (2002) y Arndt et al. (2015).

PRUEBA	Nado forzado		
INDICADOR	Evaluar la depresión en roedores (típicamente ratas y ratones).		
DÍA EN QUE SE HACE	DP82, 15 min después de la prueba de campo abierto		
DURACIÓN	5 min		
CONDUCTAS	Tiempo de movilidad	Tiempo de inmovilidad	Tiempo de escape
QUÉ MIDEN	Conducta marcada como cese de lucha.	Refleja desesperanza conductual.	Comportamiento dirigido a la fuga.

Tabla 4. Se muestran los indicadores conductuales y detalles de la prueba de nado forzado. Tomado y modificado de Patki et al. (2014); Boyko et al. (2015); Cryan et al. (2002) y Arndt et al. (2015).

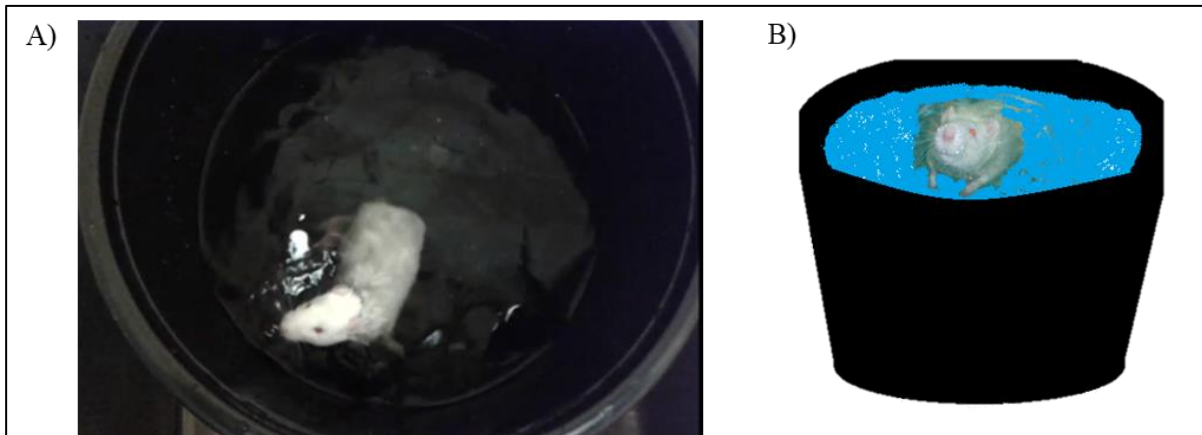


Figura 9. Prueba de nado forzado. (A) Se muestra una fotografía de la prueba de nado forzado con un sujeto experimental. (B) Ilustración de la prueba de nado forzado. Donde se muestra la forma del recipiente que se utilizó en la prueba de nado forzado.

4.4.4. Interacción social

La prueba de interacción social se realizó en el DP83 como se describió anteriormente por Jaisinghani y Rosenkranz (2015) con modificaciones menores. Se utilizó una caja negra de 1x1 m de área, la cual se dividió en 25 cuadrantes y se marcó el centro y el cuadrante uno con un círculo rojo (Ver figura 10). La caja donde permaneció el sujeto de interacción tenía 31 cm de alto y 20x21 cm de área, era transparente y contaba con la ventilación necesaria para la rata. La caja se colocó de forma aleatoria en el cuadrante 3 o 23. Una vez que la cámara (Logitech webcam C920) estaba colocada y en la mesa de trabajo, se preparaban las hojas de registro, sanitas y agua con cloro debidamente preparadas, el sujeto de interacción fue transportado del interior al cuarto donde se llevó a cabo la prueba cubierto por una franela roja, donde permaneció habituándose con alimento y agua ad libitum durante 15 min. Posteriormente, la rata experimental se trasladó del interior al cuarto experimental cubierto con una franela roja, donde permaneció 5 min para su habituación. Antes de comenzar la interacción, se inició la grabación y se mostró la fecha de identificación de la rata. Se introdujo el sujeto de interacción en la caja transparente y a la rata experimental en el centro del campo y se tomó el tiempo durante 10 min. El experimentador inició el registro en 'la hoja de registro'. Una vez finalizada la prueba, la rata fue devuelta al interior y se limpió el campo de la caja con agua clorada y sanitas para eliminar los rastros de olores. Finalmente, las sesiones fueron calificadas de manera manual (Ver Tabla 5).

PRUEBA	Interacción social		
INDICADOR	La reducción de la interacción indica ansiedad social.		
DÍA EN QUE SE HACE	DP83		
DURACIÓN	5 min		
CONDUCTAS	Tiempo en zona de interacción	Tiempo en zona de no interacción	Tiempo en zona centro
QUÉ MIDEN	Aproximación de la rata experimental con el sujeto de interacción.	Comportamiento de evitación social.	Comportamientos no sociales.

Tabla 5. Se muestran todos los indicadores y detalles que se tomaron en cuenta en la prueba de interacción social. Tomado y modificado de Franklin et al. (2012); Rana et al. (2016) y Chirico et al. (2017).

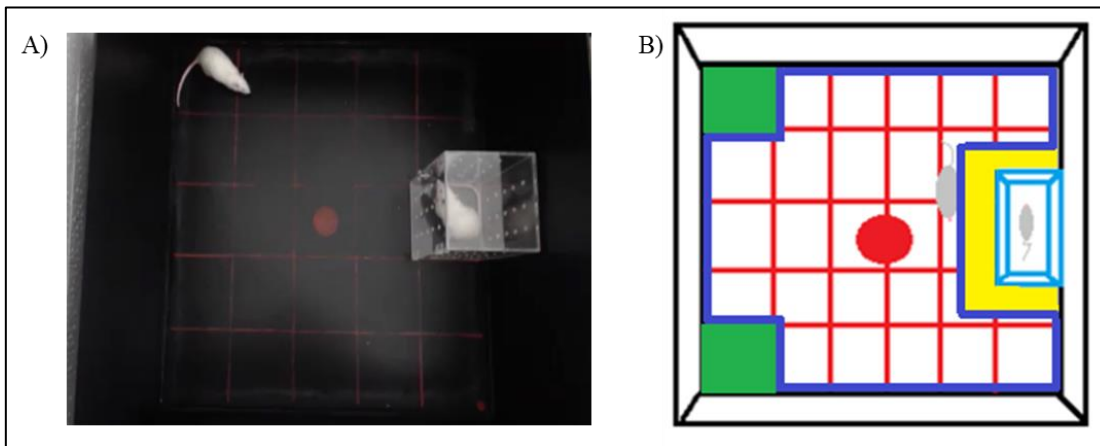


Figura 10. Prueba de interacción social. (A) Se muestra una fotografía de la prueba de interacción con un sujeto experimental y un sujeto interactuado dentro de un contenedor de acrílico. (B) Ilustración de la prueba de interacción social. Se ejemplifica la prueba de interacción social donde se señalizan las zonas de interacción social de color amarillo, la zona central de color azul y la zona de no interacción social en color verde.

4.5. Perfusión y preparación del tejido

La perfusión y preparación del tejido se realizó como se describe anteriormente por Nikulina et al. (2012), con modificaciones menores. Las ratas experimentales fueron anestesiadas 1 h 10 min después de la prueba de interacción social con pentobarbital sódico (PISABENTAL inyectable) la dosis fue estimada acorde al manual del fármaco, vía intraperitoneal (25mg/kg). En el momento que la rata estuvo sedada se transportó al lugar de perfusión, debidamente cubierta con una franela roja. Una hora y 20 min después de la prueba de interacción social se realizó la perfusión transcardiaca por gravedad. Se utilizó 200 ml de una solución de fosfato salino (PBS) al 0.1 M con un pH de 7.4 y 200 ml de paraformaldehído al 4%. El cerebro se conservó en paraformaldehído al 4% la primera noche y posteriormente se cambió a sacarosa al 18% en PBS hasta que el cerebro se observó al fondo del recipiente. Una vez ocurrido esto, se volvió a cambiar para sacar al 30% en PBS. Finalmente, los cerebros fueron congelados a -20°C y se realizaron cortes coronales de 40 micras utilizando un criostato (Leica). De acuerdo con el Atlas de Paxinos y Watson se recuperaron cortes en dos niveles: la CPFm (3.38mm a 2.80mm) y el HPC dorsal (-2.80mm a -3.20mm). Una vez concluidos, se seleccionaron 4 cortes para las estructuras de la CPFm y 6 cortes para el HPC-dorsal y se realizó la inmunohistoquímica contra la proteína c-fos.

4.5.1. Inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica del tejido se realizó por flotación, como se describe anteriormente por Montes-Rodríguez (2009), con modificaciones menores. Primero, se bloqueó contra la peroxidasa endógena con H₂O₂ al 0.5% en PBS durante 20 min, seguido de lavados de 3x8 min cada uno en Tritón al 0.3% en PBS (T-PBS). Posteriormente se hizo un bloqueo para evitar las uniones inespecíficas con albúmina bovina al 4% en T-PBS por 2 h. El tejido se incubó en el anticuerpo primario antic-fos (ABE-457, Merck) desarrollado en conejo (1:1000) con albúmina al 2% en T-PBS por 24 h a temperatura ambiente (23°C). Posteriormente, se realizaron lavados de 3x8 min de T-PBS 0.3% y se colocó en el anticuerpo secundario (BA-1000, Vector) biotinilado anti-conejo (1:200) con 5 µl de suero de cabra por 1 ml de T-PBS. Se realizaron lavados de 3x8 min cada uno en T-PBS y se colocó en el complejo de avina-biotina (SC-516216, ImmunoCruz) durante 2 h, considerando que por cada 5 ml de T-PBS se pondrá 50 µl de A y 50 µl de B. Finalmente se reveló el tejido. Para la preparación de 5 ml de diaminobencidina (DAB), se utilizaron 500 µl de 10x TBS, 4232.5 µl de agua destilada, 250 µl de DAB stock y finalmente 2.5 µl de H₂O₂ al 30%. Para realizar el análisis de c-fos se tomaron fotos bilaterales de la CPFm (3.38mm a 2.80mm con respecto a Bregma) y el HPC dorsal (-2.80 a -3.20 con respecto a Bregma) con la cámara INFINITY 1-33.1 Megapíxel USB 2.0 (2048x1536 pixeles de resolución) montada sobre un microscopio de luz (ECLIPSE E200MV, Nikon) con un objetivo 10x para la corteza IL, PrL, CA1 y CA3 y 4x para el GD con la finalidad tomar la mayor parte del campo en las estructuras antes mencionadas. Posteriormente, la señal de la proteína c-fos que se localiza en los núcleos de las neuronas se contabilizó de forma manual, los colores que distinguen la señal revelada por DAB son de tonalidades marrones, de esta forma se observa un fondo de color marrón beige y la señal comienza a aparecer con gradiente de marrón beige a marrón caoba, por

lo que se tomaron como criterios de células positivas a c-fos las señales con formas puntiformes bien definidas de color “marrón gamuza” a “marrón ante” y excluyendo a las células con figuras no definidas de tamaño pequeño o manchas de tamaño grande con colores cercanos al “marrón beige”, “marrón caoba”, y “negro”, en la CPFm y el HPC dorsal por medio del programa ImageJ.

4.6. Análisis estadístico

Los datos que se obtuvieron fueron analizados por medio del paquete estadístico STATISTICA (data analysis software system versión 12, StatSoft, 2014). Para decidir el uso de pruebas paramétricas o no paramétricas se utilizó la prueba de contraste de normalidad de Shapiro-Wilk para cada variable, además se utilizó la prueba de Levene para evaluar la igualdad de varianzas de cada variable.

Para el análisis de la DSL se evaluaron 5 de 10 sesiones de DSL por cada rata sometida al protocolo, obteniendo la sumatoria de la duración de cada conducta evaluada en DSL. Posteriormente se realizó la prueba t de Student para las variables paramétricas y la prueba U de Mann-Whitney para las variables no paramétricas para evaluar diferencias entre los animales con SM y sin SM. Por otra parte, los datos obtenidos de la batería conductual que pasaron la prueba de contraste de normalidad ($p > 0.05$) fueron tratados con el análisis de varianza de un factor (ANOVA) seguido por la prueba de comparación múltiple de diferencia significativa mínima de Fisher (LSD por sus siglas en inglés). Para los datos que rechazaron la hipótesis nula de la prueba de contraste de normalidad se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis ANOVA y la prueba Post-Hoc Bonferroni. Para el conteo de las células positivas a c-fos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba post-hoc Duncan para su análisis estadístico.

5. Resultados

5.1. La separación maternal no tuvo efecto en los encuentros de derrota social leve.

Con el objetivo de conocer si la SM tuvo un efecto en los encuentros de DSL se compararon las conductas desplegadas durante los encuentros de DSL (Ver figura 11). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las conductas ofensivas (CO) ($p = 0.62$); conductas defensivas (CD) ($p = 0.71$); conductas de exploración social (CES) ($p = 0.78$) y conductas de no exploración social (CNES) ($p = 0.81$). El porcentaje de conductas observadas en la DSL para la condición NSM+DSL, fue de 58% en conductas de no exploración (conductas dirigidas a explorar la caja), 32% en conductas de exploración social (conductas de olfateo, juego y acicalamiento entre pares), 10% en conductas ofensivas (conductas agresivas dirigidas a la rata experimental como boxeo, amenazas laterales, ataques y movimiento de aserrín dirigido a la rata experimental) y 2% en conductas defensivas (posturas sumisas, inmovilidad y alejarse del residente) y para la condición SM+DSL, fue de 48% en conductas de no exploración, 43% en conductas de exploración social, 9% en conductas ofensivas y 2% en conductas defensivas. Es importante mencionar que las conductas ofensivas ocurrieron simultáneamente a las conductas defensivas por lo que la suma del porcentaje de conductas observadas durante los encuentros de DSL no es igual a 100%.

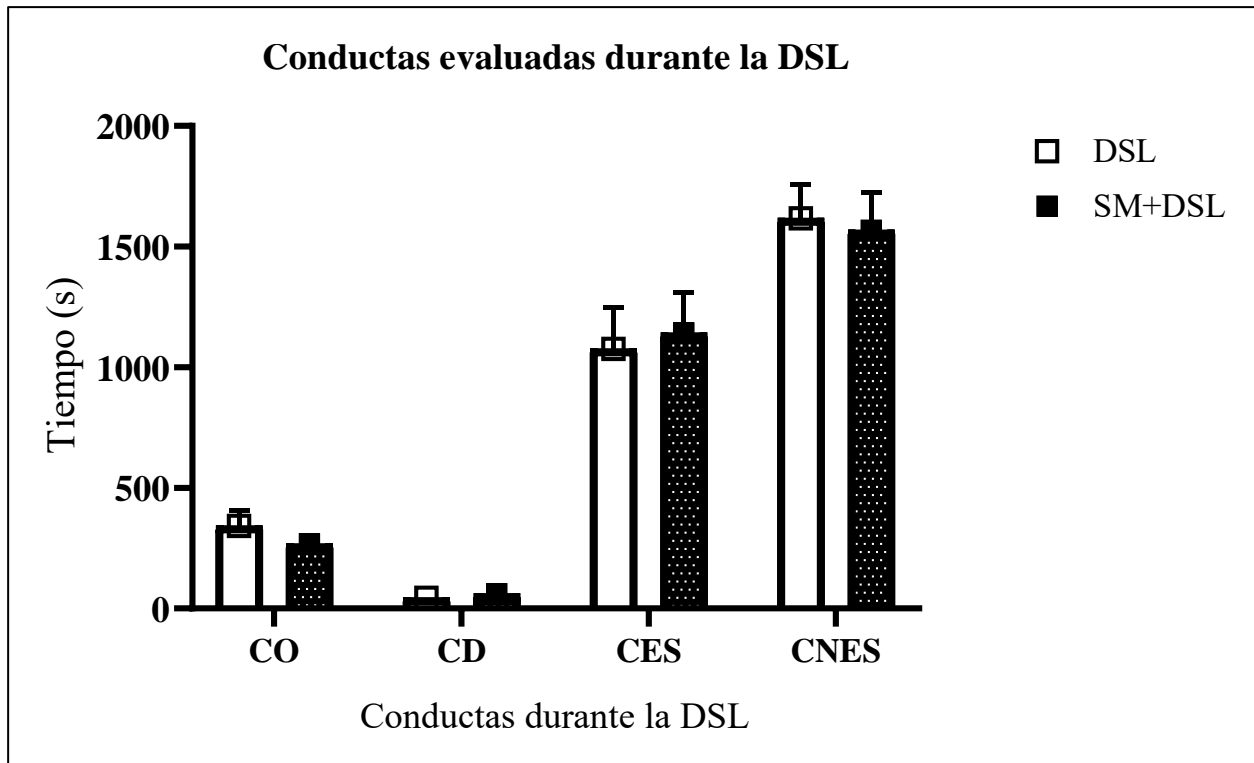


Figura 11. Conductas evaluadas en la DSL. La SM no tuvo efecto en las conductas desplegadas durante los encuentros de DSL, las barras representan las conductas desplegadas durante los encuentros de la DSL y los datos son presentados como la media \pm E.E.M. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la prueba de U de Mann-Whitney en las conductas ofensivas (CO), conductas defensivas (CD), conductas de exploración social (CES) ni en las conductas de exploración no social (CNES). Derrota social leve sin separación materna (DSL, n=15) y separación maternal con derrota social leve (SM+DSL, n=14).

5.2. La derrota social leve produjo cambios en el peso corporal

Con el objetivo de saber si existió una pérdida de peso después de la derrota social leve se graficó el peso antes y después de la DSL. No se encontraron diferencias significativas en el análisis de varianza de un factor en el peso de los sujetos experimentales antes de la DSL ($p = 0.18$), ni después de la DSL ($p = 0.56$), (Ver figura 12, A). Con la finalidad de conocer si existieron cambios en el peso corporal se calculó el incremento de peso corporal a través de la siguiente fórmula (peso después DSL – peso antes DSL), encontrando diferencias estadísticas observando una disminución del incremento del peso corporal ANOVA ($F(3, 44) = 7.84, p < 0.05$) (Ver figura 12, B) en las siguientes condiciones: C contra DSL y SM+DSL ($p < 0.05$); SM contra DSL y SM+DSL ($p < 0.05$).

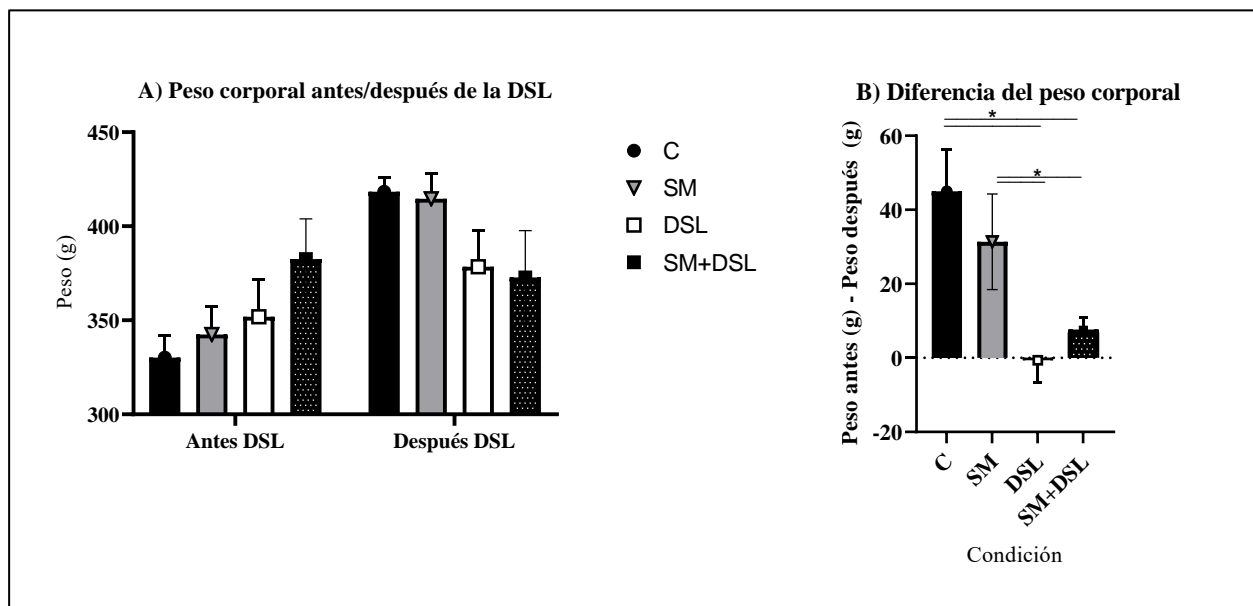


Figura 12. La DSL induce cambios en el peso corporal. (A) Peso corporal antes y después de la DSL. Las barras representan el peso corporal antes y después de la DSL en cada condición. Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA antes ni después de la DSL. (B) Diferencia del peso corporal. Las barras representan la diferencia del peso corporal (Después DSL – Antes DSL). Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. Se encontraron diferencias significativas en el ANOVA, se observa un incremento del peso corporal entre los grupos: C contra DSL y SM+DSL; el grupo SM contra DSL y SM+DSL; $*p \leq 0.05$. Control (C, $n = 13$); Separación materna (SM, $n = 15$); derrota social leve sin separación materna (SM, $n = 10$) y SM con derrota social leve (SM+DSL, $n = 10$).

5.3. La derrota social leve indujo cambios en el consumo de sacarosa.

El objetivo de la prueba de preferencia de sacarosa es conocer si nuestras manipulaciones experimentales redujeron el consumo de sacarosa, indicador que se considera como un signo de comportamiento anhedónico. No se encontraron diferencias significativas en la prueba de Kruskal-Wallis en el consumo de sacarosa antes de la derrota social en ninguna de las tres mediciones: 1h ($p = 0.31$), 4h ($p = 0.91$) y 24h ($p = 0.44$) (Ver figura 13, A). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la prueba de Kruskal-Wallis en el consumo de sacarosa después de la derrota social en la medición de una hora ($p = 0.19$) y cuatro horas ($p = 0.16$); sin embargo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el ANOVA de un factor 24h después de la derrota social ($F(3, 55) = 4.03, p < 0.05$), siendo estadísticamente diferente la disminución del consumo de sacarosa en las condiciones DSL ($p < 0.05$) y SM+DSL ($p < 0.05$) respecto a la condición C, y la disminución del consumo de sacarosa de la condición DSL respecto a la condición de SM ($p < 0.05$) (Ver figura 13, B).

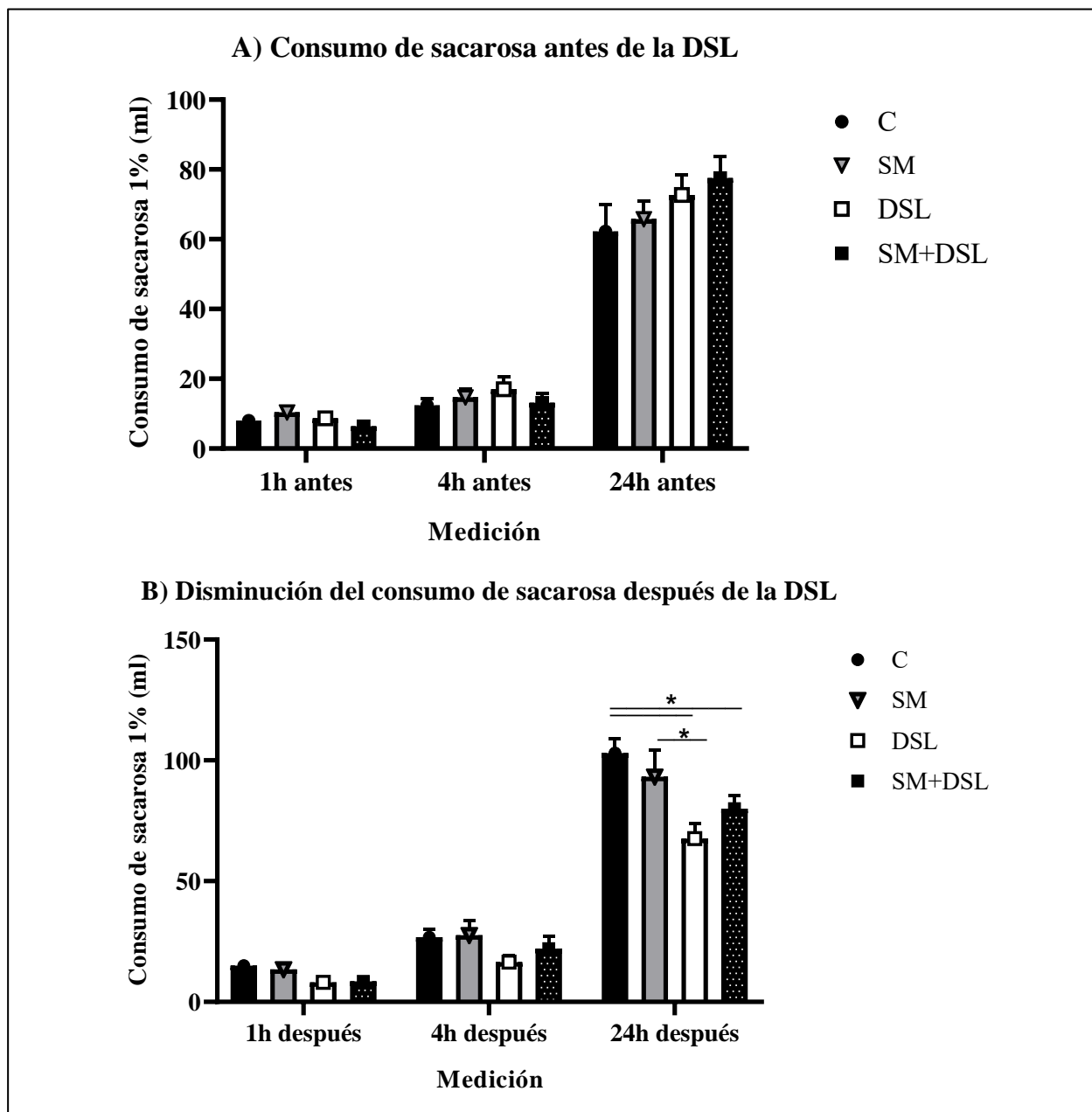


Figura 13. La DSL induce cambios en el consumo de sacarosa. (A) Consumo de sacarosa antes de la DSL, medición 1h, 4h y 24h. Las barras representan la ingesta de agua con sacarosa al 1% en la medición 1h, 4h y 24 antes de la DSL. Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA entre los grupos. (B) Consumo de sacarosa después de la derrota social leve, medición 1h, 4h y 24h. Las barras representan la ingesta de agua con sacarosa al 1% en la medición 1h, 4h y 24 después de la DSL. Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. Se encontraron diferencias significativas en el ANOVA, en la medición 24h después de la DSL entre los grupos: C contra DSL y SM+DSL y el grupo SM contra DS, $*p \leq 0.05$. Control (C, n=13); separación materna (SM, n= 15); derrota social leve sin separación materna (DSL, n=16) y SM con derrota social leve (SM+DSL, n=15).

5.4. La derrota social leve no produjo efectos ansiogénicos

La prueba de campo abierto evalúa el comportamiento de ansiedad en roedores, como indicador ansiogénico se considera el tiempo que el sujeto pasa en la periferia del campo. No se encontraron diferencias significativas en la prueba de Kruskal-Wallis en el tiempo que el sujeto pasó en la periferia del campo abierto ($p=0.92$), tampoco en el tiempo que pasó el sujeto en el centro ($p=0.92$) (Ver figura 14, A); así mismo, no se encontraron diferencias significativas en el ANOVA en la distancia recorrida ($p=0.43$) (Ver figura 14, B).

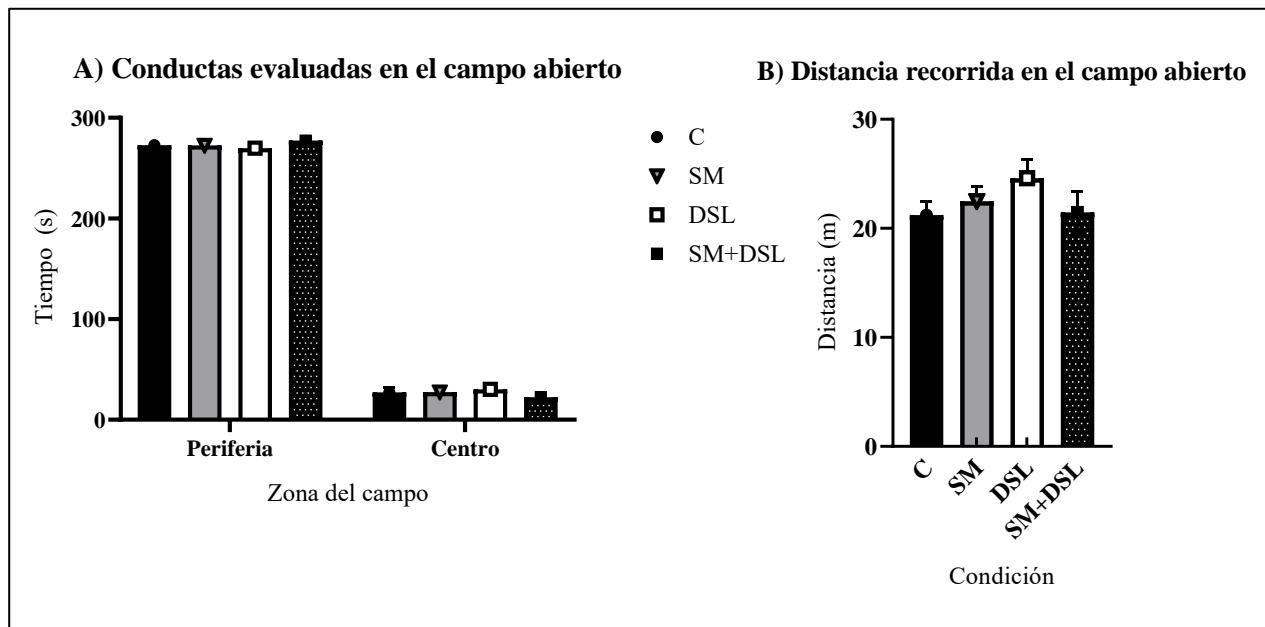


Figura 14. La DSL no produce efecto ansiogénico. (A) Conductas evaluadas en el campo abierto. No se encontró efectos ansiogénicos en la SM ni después de la exposición a la DSL. Las barras representan el tiempo que las ratas pasan en la periferia o el centro del campo abierto. Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA. (B) Distancia recorrida en el campo abierto. La locomoción no aumentó en ninguna de las condiciones. Las barras representan la distancia recorrida en el campo abierto. Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA. Control (C, $n=13$); separación maternal (SM, $n=15$); derrota social leve sin separación materna (DSL, $n=15$) y separación maternal con derrota social leve (SM+DSL, $n=13$).

5.5. La derrota social leve no indujo cambios de motivación.

La prueba de nado forzado evalúa conductas de tipo depresivas en roedores, el tiempo de inmovilidad refleja desesperanza conductual. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables de nado forzado: frecuencia de escape ($p = 0.60$); frecuencia de movilidad ($p = 0.44$); frecuencia de inmovilidad ($p = 0.56$), (Ver figura 15, A); ni en el tiempo de movilidad ($p = 0.19$); tiempo de inmovilidad. Sin embargo, se observa una tendencia de disminución en el tiempo de escape en las condiciones DSL y SM+DSL respecto a la condición C ($p = 0.06$), pero no fue significativamente diferente (Ver figura 15, B).

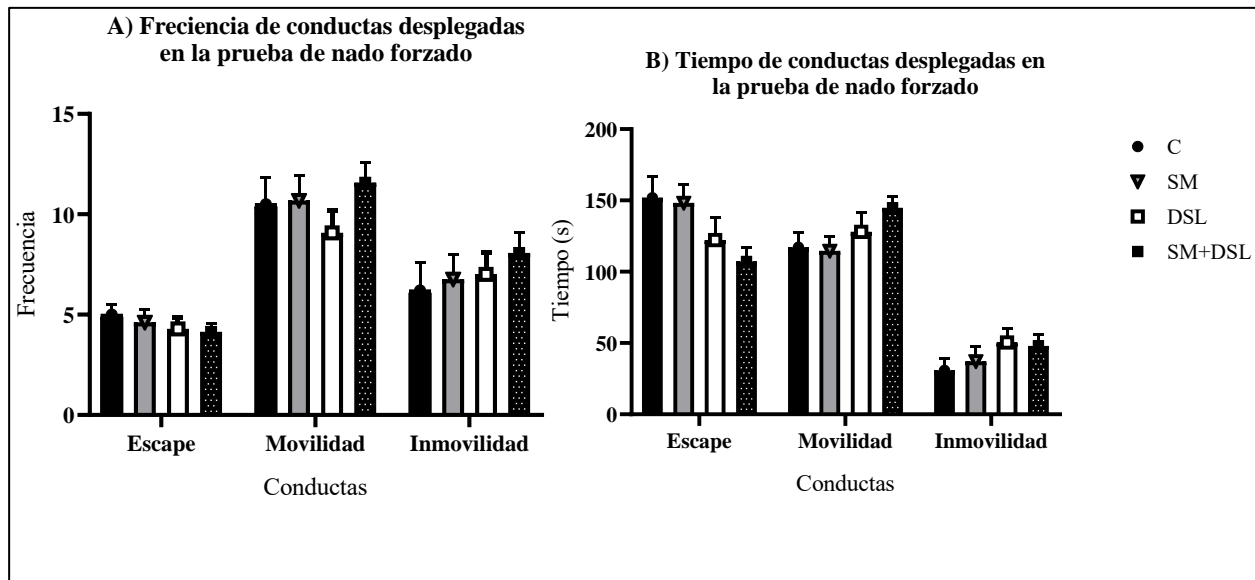


Figura 15. La DSL no induce cambios de motivación. (A) Frecuencia de conductas en nado forzado. Las barras representan la frecuencia de conductas durante la prueba de nado forzado. Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA. (B) Tiempo de conductas en nado forzado. Las barras representan la frecuencia de conductas durante la prueba de nado forzado. Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA. Control (C, $n=14$); separación maternal (SM, $n=14$); derrota social leve sin separación materna (DSL, $n=13$) y separación maternal con derrota social leve (SM, $n=13$).

5.6. La derrota social leve incremento el tiempo de interacción social.

El objetivo de la prueba de interacción social es conocer cuánto tiempo pasa el sujeto experimental interactuando con un sujeto extraño, así la disminución del tiempo de interacción social es un indicador de ansiedad social. No se encontraron diferencias significativas en las siguientes variables: latencia de la zona de interacción social ($p = 0.06$) (Ver figura 16, A); frecuencia en la zona de interacción ($p = 0.29$); frecuencia de la zona de no interacción social ($p = 0.55$); frecuencia en la zona centro ($p = 0.184$); (Ver figura 16, B); tiempo en la zona de no interacción ($p = 0.862$); tiempo en la zona centro ($p = 0.050$). También, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el ANOVA en el tiempo en la zona de interacción social ($F(3, 54) = 3.21, p < 0.05$) (Ver figura 16, C), se observa un aumento en el tiempo de interacción social en la condición de SM+DSL con respecto al C y a la SM.

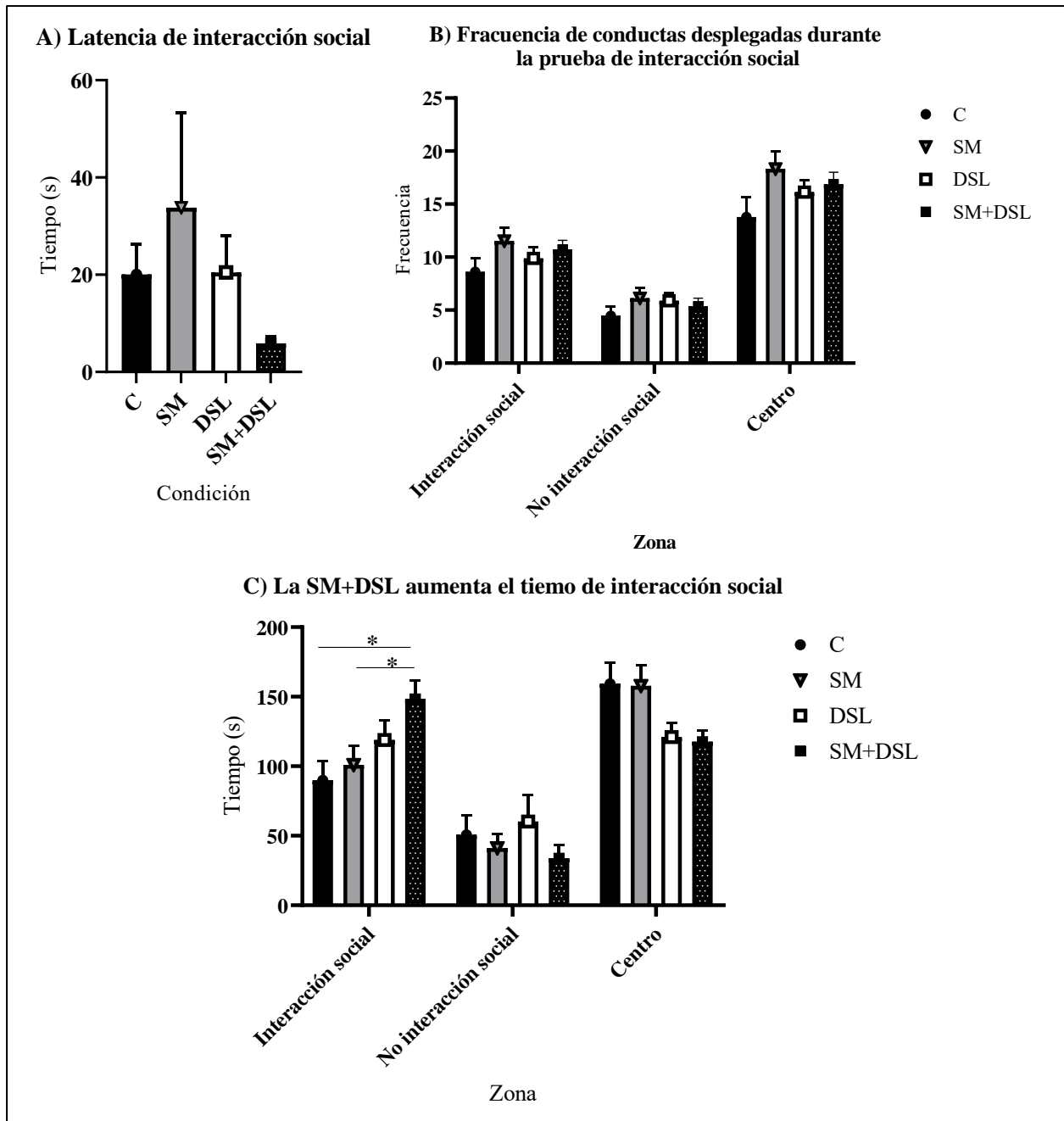


Figura 16. La DSL incrementa el tiempo de interacción social. (A) Latencia de interacción social. No se observaron diferencias significativas en la latencia de interacción social. Las barras representan el tiempo que las ratas tardaron en entrar a la zona de interacción social. (B) Frecuencia en la zona de la prueba de interacción social. Las barras representan la frecuencia con la que las ratas visitaron cada una de las zonas del campo abierto (Zona de interacción social, zona de no interacción social y zona centro) (C) Tiempo en la zona de la prueba de interacción social. Las barras representan el tiempo que las ratas estuvieron en cada una de las zonas del campo abierto (Zona de interacción social, zona de no interacción social y zona centro). Los datos son presentados como la media \pm E.E.M. Solo se encontraron diferencias significativas en la zona de interacción social en el ANOVA: C contra SM+DSL y el grupo SM contra SM+DSL: $*p \leq 0.05$. Control (C, n=13); Separación maternal (SM, n= 15); derrota social leve sin separación materna (DSL, n=16) y separación maternal con derrota social leve (SM+DSL, n=14).

5.7. Las experiencias adversas produjeron cambios en la expresión de c-fos

Con el objetivo de conocer la plasticidad sináptica dependiente de la actividad se observó la expresión de c-fos asociada a la tarea de interacción social. En las figuras se muestran microfotografías representativas de secciones de la corteza IL, PrL y del GD respectivamente, para comparar el número de células positivas a c-fos en cada condición. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la corteza IL ($H, 4, 53) = 28.70, p < 0.05$), observando un aumento de células positivas a c-fos ± 60 en las condiciones C, DSL y SM+DSL respecto al CC; así mismo, se encontró que la condición SM+DSL tuvo mayor expresión de c-fos respecto a la condición SM (Ver figura 17, B). También se encontraron diferencias significativas en la corteza PrL ($H, 4, 53) = 30.07, p < 0.05$), observando un aumento de las células positivas a c-fos ± 50 en las condiciones DSL y SM+DSL con respecto a la condición CC; Se observó la disminución de las células positivas a c-fos en la condición SM respecto al C y un aumento en la condición DSL respecto a la SM (Ver figura 18, B). En el HPC se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el GD ($H (4, 11) = 12.88, p < 0.05$), observando un aumento de células positivas a c-fos ± 18 en el grupo DSL respecto al grupo CC y en el grupo DSL respecto al grupo SM (Ver figura 19, B). Pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la región CA1 ($p = 0.05$) ni en la región CA3 H ($P = 0.72$) (Ver figura 20).

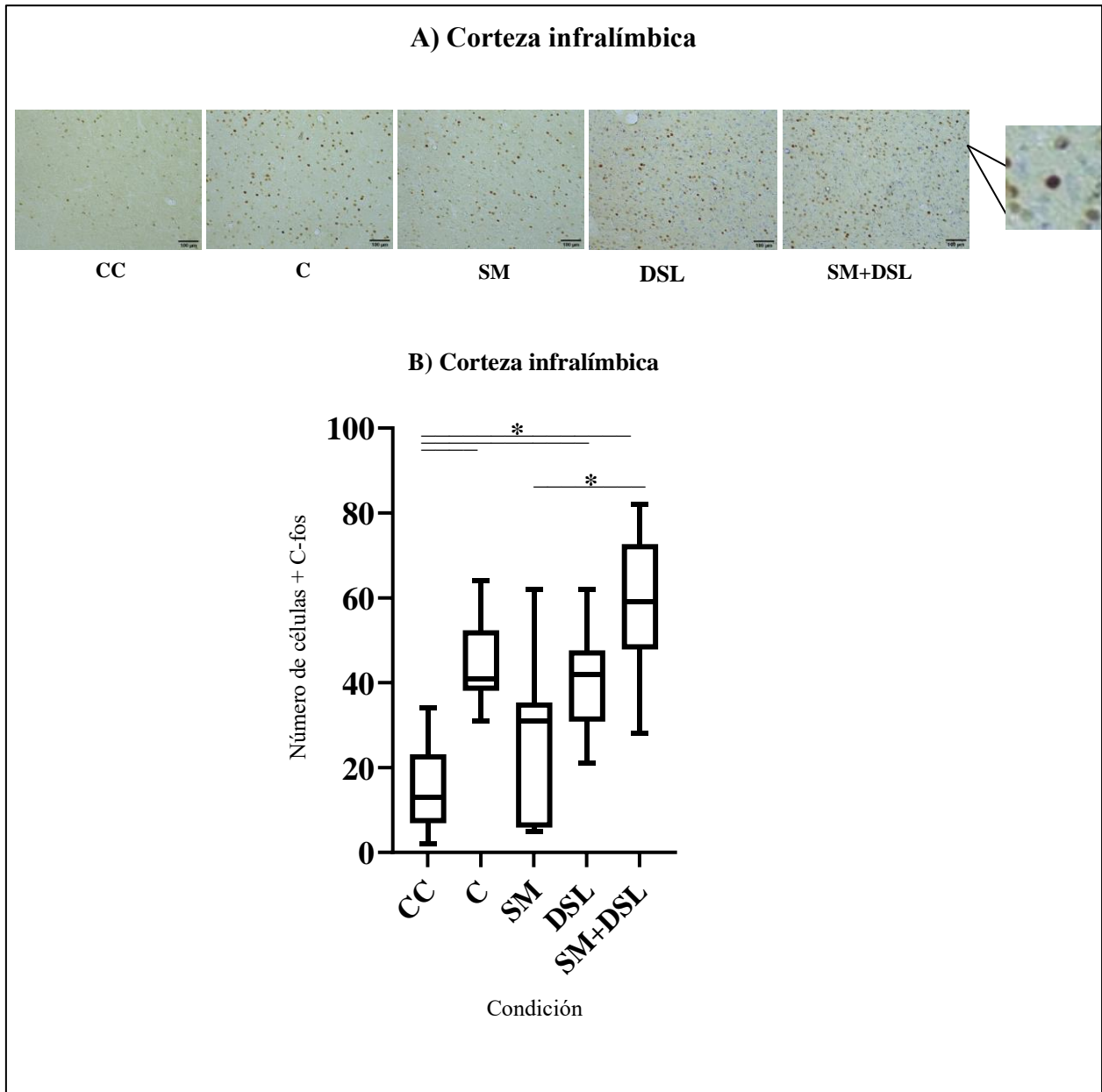


Figura 17. Expresión de c-fos en la corteza infralímbica. (A) Microfotografías de la corteza infralímbica. Cada panel muestra una imagen representativa de secciones de la corteza infralímbica de cada condición para comparar el número de células positivas a c-fos. Las fotografías fueron tomadas a 10X. En la parte inferior derecha de cada panel se encuentra una barra escalar que representa 100 µm. (B) Número de células positivas a c-fos en la corteza infralímbica. Los hitos en las barras representan las medianas y las barras de los rangos intercuartiles. Los datos son presentados como mediana ± rango intercuartil. Se encontraron diferencias significativas en el ANOVA entre los grupos: CC contra C, DSL y SM+DSL y en el grupo SM contra SM+DSL, * $p < 0.05$. Control de caja (CC, n=4); control (C, n=3); separación materna (SM, n= 4); derrota social leve sin separación materna (DSL, n=3) y separación con derrota social leve (SM+DSL, n=3).

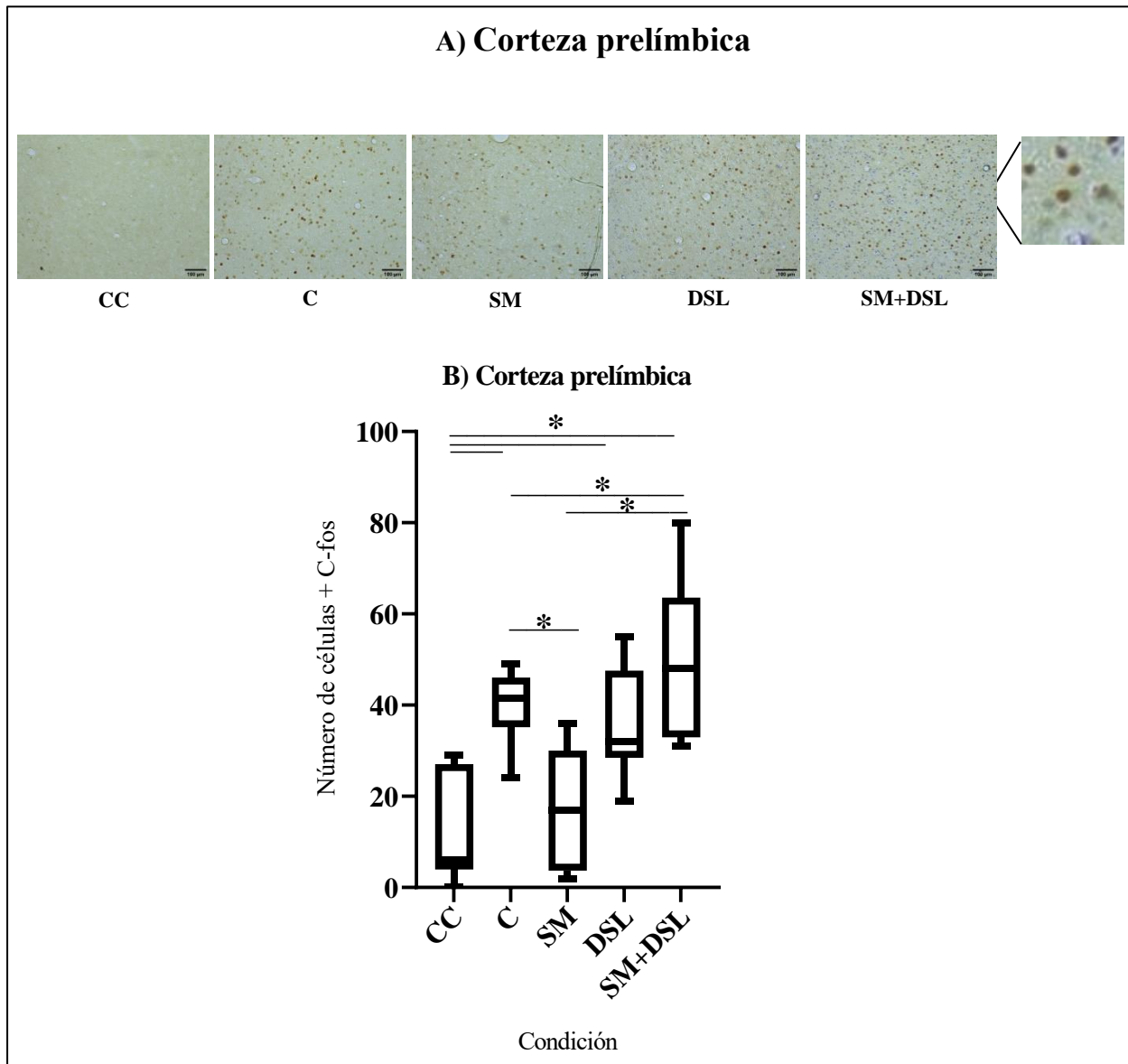


Figura 18. Expresión de c-fos en la corteza prelámbica. (A) Microfotografías de la corteza prelámbica. Cada panel muestra una imagen representativa de secciones de la corteza prelámbica de cada condición para comparar el número de células positivas a c-fos. Las fotografías fueron tomadas a 10X. En la parte inferior derecha de cada panel se encuentra una barra escalera que representa 100 µm. (B) Número de células positivas a c-fos en la corteza prelámbica. Los hitos en las barras representan las medianas y las barras de los rangos intercuartiles. Los datos son presentados como mediana ± rango intercuartil. Se encontraron diferencias significativas en el ANOVA entre los grupos: CC contra DSL y SM+DSL, el grupo C contra SM y el grupo SM contra SM+DSL. * $p \leq 0.05$. Control de caja (CC, n=4); control (C, n=3); separación maternal (SM, n= 4); derrota social leve sin separación materna (DSL, n=3); y separación maternal con derrota social leve (SM+DSL, n=3).

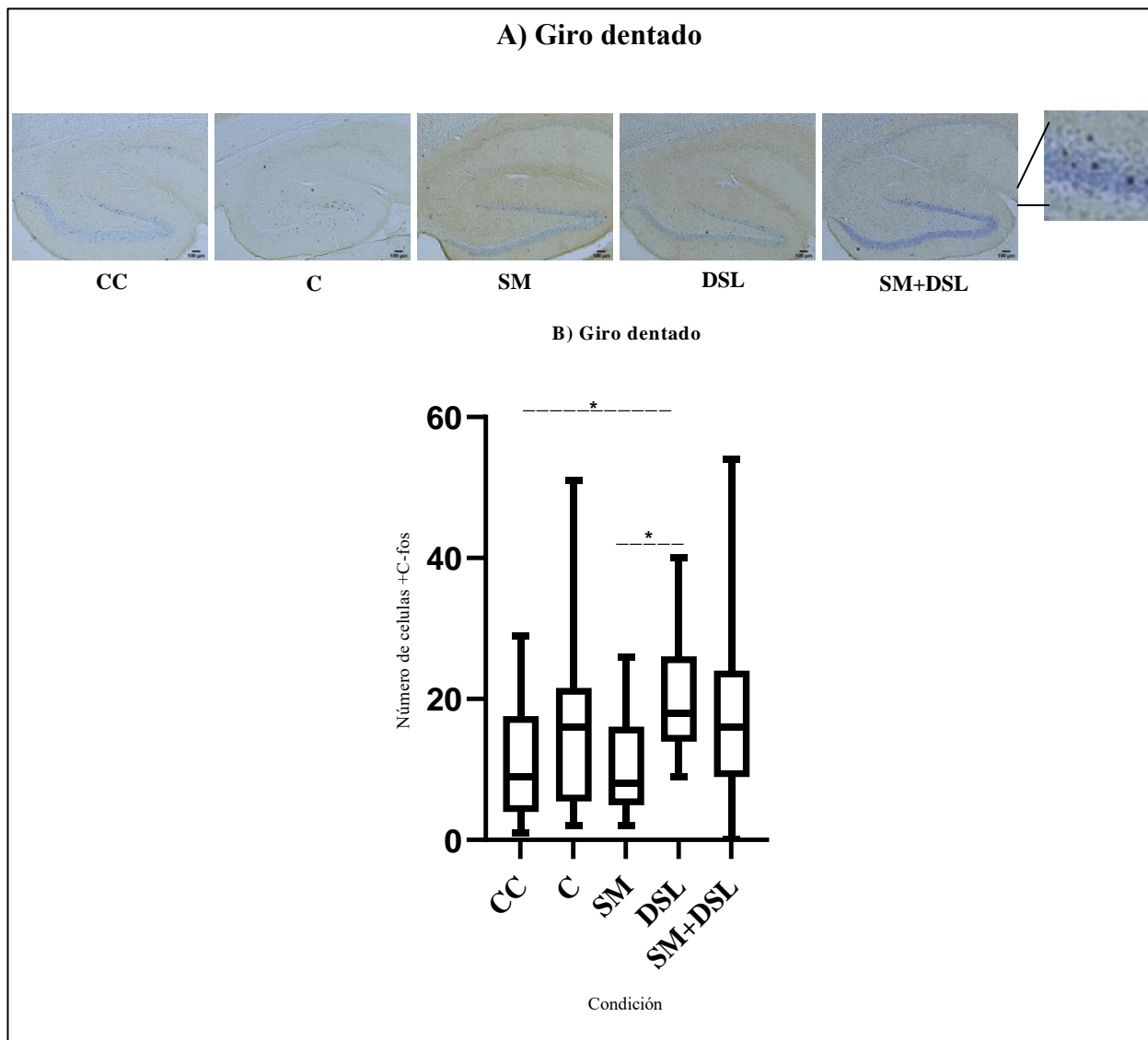


Figura 19. Expresión de c-fos en el giro dentado del HPCd. (A) Microfotografías del giro dentado. Cada panel muestra una imagen representativa de secciones del giro dentado de cada condición para comparar el número de células positivas a c-fos. Las fotografías fueron tomadas a 4x. En la parte inferior derecha de cada panel se encuentra una barra escalera que representa 100 μ m. (B) Número de células positivas a c-fos en el giro dentado del HPCd. Los hitos en las barras representan las medianas y las barras de los rangos intercuartiles. Los datos son presentados como mediana \pm rango intercuartil. Se encontraron diferencias significativas en el ANOVA entre los grupos: CC contra DSL y el grupo SM contra DSL $*p \leq 0.05$. Control de caja (CC, n=4); control (C, n=3); separación materna (SM, n= 4); derrota social leve sin separación materna (DSL, n=3) y separación materna con derrota social leve (SM+DSL, n=3).

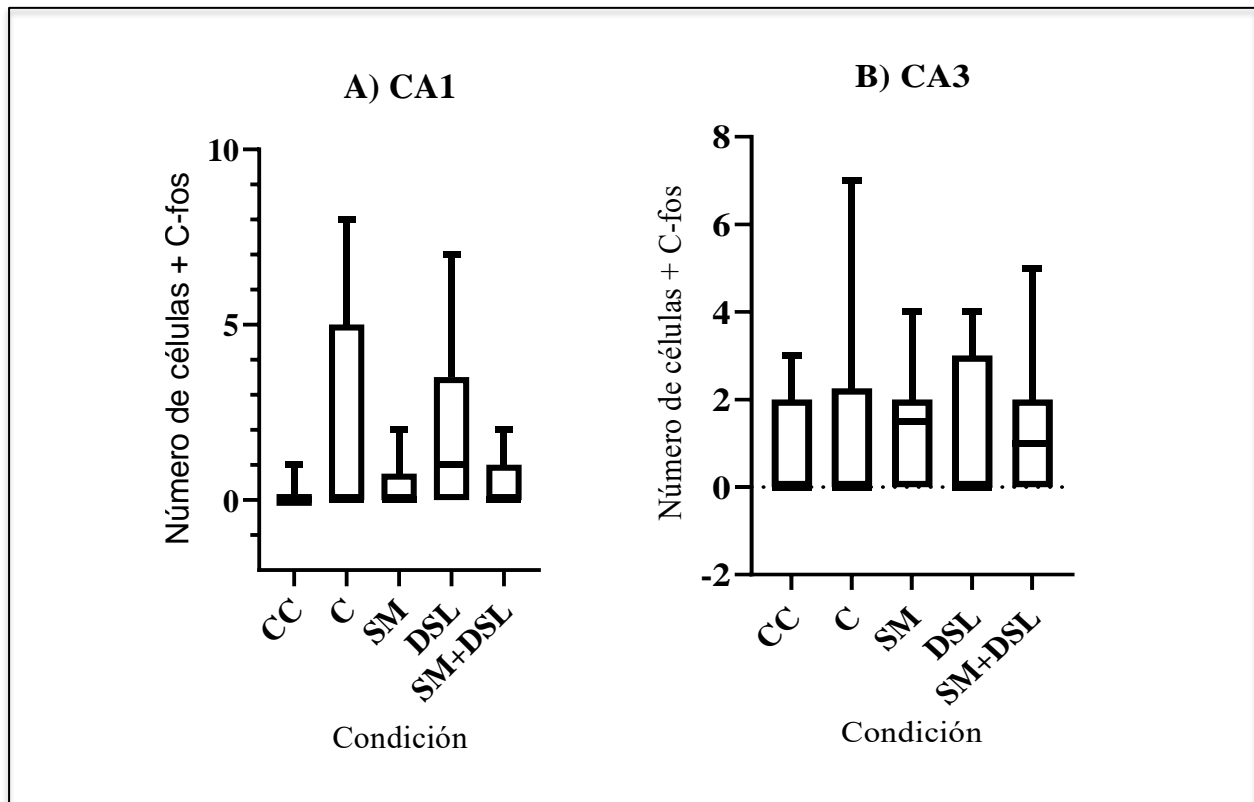


Figura 20. Expresión de c-fos en CA1 y CA3 del HPCd. A) Número de células positivas a c-fos en CA1 y B) Número de células positivas a c-fos en CA3 del HPC dorsal. Los hitos en las barras representan las medianas y las barras de los rangos intercuartiles. Los datos son presentados como mediana \pm rango intercuartil. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA en CA1 ni en CA3. Control de caja (CC, n=4); control (C, n=3); separación materna (SM, n= 4); derrota social leve sin separación materna (DSL, n=3) y separación materna con derrota social leve (n=3).

6. Discusión y conclusiones

6.1. Discusión

Este trabajo de tesis tuvo como objetivo estudiar si las experiencias adversas facilitan la vulnerabilidad o la resiliencia, específicamente, evaluar si la SM en el desarrollo temprano, la DSL en la vida adulta y la SM+DSL promueven conductas vulnerables y modifican la actividad de c-fos como un indicador de plasticidad sináptica en la corteza prefrontal medial y en el hipocampo dorsal de rata.

No obstante, se encontraron conductas de tipo depresivas, pero no ansiosas, además se observó la disminución en el aumento del peso corporal en las condiciones DSL y SM+DSL, es decir, las ratas que fueron expuestas a DSL y SM+DSL mostraron conductas vulnerables. Mientras que el protocolo de SM no tuvo efectos en ningún dominio conductual; es posible que esto se deba a que la SM fue realizada en pares y no de manera individual, ya que se ha reportado que el efecto de la SM puede ser diferente según el periodo de tiempo, la duración y si la separación se realizó de forma individual o en pares. En este sentido, se ha reportado que las experiencias tempranas son fundamentales para el establecimiento de circuitos corticales y que la experiencia sensorial a través de los bigotes entre pares es una forma importante de comunicación social en roedores, que conduce a un aumento en la transmisión sináptica (Miyazaki et al., 2012).

Por otro lado, en la prueba de interacción social se encontró que las ratas con la condición SM+DSL pasaron más tiempo en la zona de interacción social respecto a las condiciones C y SM. Es probable que esto se deba al tipo de experiencia que las ratas presentaron durante los encuentros de DS, es decir, las experiencias de interacción social durante los encuentros fueron más significativas que el tiempo que fueron agredidas. Es interesante que el aumento en la

interacción social es significativo sólo al combinar la DS con la SM, que es también un tipo de estrés social. Otra posibilidad es que tal vez tanta interacción no es adaptativa ya que a pesar de que podría parecer una conducta resiliente, las ratas presentan conductas de tipo vulnerables, es decir, disminución del consumo de sacarosa, disminución del aumento del peso corporal y una tendencia en la disminución del tiempo de escape.

Estos resultados son difíciles de enmarcar en alguna teoría sobre el procesamiento del estrés y su efecto para predecir el moldeamiento de sujetos vulnerables o resilientes, tales como la hipótesis de estrés acumulativo, la hipótesis de inoculación y la hipótesis de coincidencia/desajuste (Genty et al., 2018). Sin embargo, concuerdo con Del Giudice et al. 2018 y Daskalakis et al. 2013, quienes proponen que los procesos de vulnerabilidad y resiliencia son complejos, dinámicos y que dependen de múltiples factores como la intensidad y frecuencia de la exposición a la adversidad, las diferencias individuales y la capacidad de un organismo para modificar la trayectoria de su desarrollo. En nuestros datos esto queda de manifiesto con el aumento de la interacción social (en la prueba de interacción social) en el grupo con SM+DSL al mismo tiempo que se observa una disminución del consumo de sacarosa. Es posible que la combinación de dos experiencias de estrés social pueda tener una salida “resiliente” en la interacción social pero vulnerable en la motivación o que el aumento en la interacción social no sea adaptativo después de haber sido expuestos a estrés social, por lo que no se debería considerar una conducta resiliente.

En cuanto al análisis de c-fos, se esperaba que la SM, la DSL y la SM+DSL promoverán conductas vulnerables y la disminución de células positivas a c-fos en la CPFm y el HPC dorsal. Se halló un aumento de células positivas a c-fos en la corteza IL en los grupos C, DSL y SM+DSL respecto al CC. Sin embargo, se encontró que la condición SM+DSL aumentó las

células positivas a c-fos con respecto a la condición SM; estos datos sugieren que la corteza IL es sensible a la prueba de interacción social. Es decir, en la condición CC observamos el estado basal del cerebro contrario a la condición de control que nos indica la activación del cerebro durante la tarea de interacción social.

De manera interesante, en la corteza PrL se encontró un aumento de células positivas a c-fos en las condiciones DSL y SM+DSL contra el grupo CC; además, se observó un aumento de células positivas a c-fos en la condición SM+DSL contra el grupo SM y una disminución en la condición SM con respecto al C. Por lo que, se sugiere que el incremento observado en la corteza PrL depende de la experiencia aversiva, ya que se observa un aumento de c-fos solo en los grupos que fueron expuestos a DS, mientras que la IS no induce c-fos por si sola en la corteza PrL, es decir, no se observan diferencias en la condición C respecto al CC.

Estos datos sugieren que la corteza IL está asociada a la tarea de interacción social y que la corteza PrL es sensible a las experiencias adversas. Esto concuerda con lo reportado por Vidal-Gonzalez et al., 2006, quienes reportan que la corteza IL está asociado a la disminución de conductas de congelamiento (conducta proactiva) durante una prueba de condicionamiento aversivo, mientras que la corteza PrL está asociado a conductas de congelamiento (conductas vulnerables).

Finalmente, se encontró un aumento de la expresión de c-fos en el GD en la condición DSL respecto al grupo CC y la condición SM y no se encontraron diferencias significativas en CA1 ni en CA3. Datos que concuerdan con Chan et al. (2017), que reportan que el tratamiento con corticosterona puede disminuir la interacción social y afecta la neurogénesis del HPC en ratas aisladas socialmente. De la misma forma, el estudio realizado por García-Díaz et al. (2019) reportó en una prueba de discriminación social que las ratas con lesión en el núcleo incertus (NI)

en el segmento pontino pasaron menor tiempo con el sujeto de interacción social que con el objeto inanimado. Adicionalmente también se mostró que esta preferencia por interactuar con el objeto y no con el sujeto produjo la disminución en los niveles de inmunoreactividad de Fos en CA2 y CA3 y el incremento de la inmunoreactividad de Egr1 en el GD en comparación con las ratas control. Cabe destacar que el NI en el segmento pontino tiene proyecciones hacia la corteza prefrontal, el septum, el HPC, la AMY y el hipotálamo, que como se ha discutido anteriormente, están asociadas al reconocimiento de contextos sociales. En nuestros datos, específicamente en el giro dentado, se observó un decremento de la expresión en SM y el incremento en la expresión de c-fos en las ratas que fueron expuestas solo a DSL (a una sola experiencia adversa) pero no en SM+DSL. Esto puede deberse a que es una estructura sensible al reconocimiento social por lo que probablemente este resultado se deba a que las ratas de la condición SM+DSL tuvieron dos exposiciones de estrés social (un aprendizaje previo) por lo que respondieron con menor reactividad en el GD, lo que sugiere que el GD es una estructura sensible a los contextos adversos y sociales en la vida adulta.

Cabe destacar que la CPFm y el HPC dorsal parecen ser estructuras realmente importantes para la regulación de la vulnerabilidad y la resiliencia, ya que, como se sabe, son sistemas de memoria múltiples, fundamentales para responder ante una demanda ambiental, mediar la predicción de eventos y sus salidas conductuales (Mizumori y Jo, 2013; Montes-Rodríguez y Urteaga-Urías, 2018); por lo que se proponen como sistemas necesarios para la reorganización y resignificación de la adversidad a través de mecanismos de plasticidad sináptica que son fundamentales para el moldeamiento de sujetos vulnerables o resilientes. De modo que este trabajo muestra que el aumento de células positivas a c-fos asociada a la tarea de interacción social probablemente se deba a las experiencias adversas de tipo social que los sujetos

experimentaron y aprendieron a lo largo de su vida y, por supuesto, también a la sensibilidad de estas estructuras para responder a contextos sociales.

6.2. Conclusión y perspectivas

Los resultados de esta tesis mostraron que el protocolo de SM que se utilizó en este trabajo no tuvo efectos por sí solo en la batería conductual, sin embargo, las condiciones DSL y SM+DSL presentaron conductas de tipo anhedónico y baja motivación, pero no conductas de ansiedad. Interesantemente, la condición SM+DSL aumentó el tiempo que la rata pasó en la zona de interacción social, esto podría estar explicado por el tipo de experiencia que las ratas presenciaron durante los encuentros de DS, es decir, las experiencias de interacción social durante los encuentros fueron más significativas que el tiempo que fueron agredidas, no obstante, tanta interacción social también podría no ser adaptativa ya que las ratas presentan conductas de tipo vulnerables.

En cuanto al análisis de c-fos asociado a la prueba de interacción social se encontró que un mayor número de células positivas de c-fos en la corteza IL podría estar asociado a la tarea de interacción social, mientras que el aumento de la expresión en la corteza PrL probablemente esté asociada al tipo de experiencia adversa. Y mayor número de células positivas de c-fos en el giro dentado podría estar asociada a la exposición de un solo evento adverso en la vida adulta.

Finalmente, a partir de este estudio y discusión presentada, sería interesante realizar otro tipo de análisis estadístico que permita analizar las diferencias individuales como el análisis de componentes principales, lo que, además de permitir separar poblaciones resilientes y vulnerables, nos daría una mejor representación e interpretación de nuestros datos. Además, sería interesante realizar un protocolo de SM individual y encuentros más agresivos de DS para

observar el efecto de estresores sociales más adversos y observar cómo se mueven las células positivas a c-fos junto con otros marcadores de plasticidad sináptica específicos como, BDNF, Arc y Homer 1 (que permiten observar procesos fisiológicos subyacentes a la plasticidad sináptica, proliferación y la eliminación sinápticas, respectivamente) e incluir marcadores que utilicen anticuerpos contra los receptores de los neurotransmisores con la finalidad de conocer de manera específica las funciones celulares y los tipos celulares que se ven involucradas en este fenómeno de estudio ya que la proteína de c-fos solo nos permite observar la actividad neuronal e inferir que las células positivas a c-fos podrían estar siendo sometidas a procesos de plasticidad sináptica.

7. Referencias

- Albuquerque Filho, M. O., de Freitas, B. S., Garcia, R. C. L., de Freitas Crivelaro, P. C., Schröder, N., & de Lima, M. N. M. (2017). Dual influences of early-life maternal deprivation on histone deacetylase activity and recognition memory in rats. *Neuroscience*.
- Arndt, D. L., Peterson, C. J., & Cain, M. E. (2015). Differential rearing alters forced swim test behavior, fluoxetine efficacy, and post-test weight gain in male rats. *PloS ONE*, 10(7), e0131709.
- Aya-Ramos, L., Contreras-Vargas, C., Rico, J. L., & Dueñas, Z. (2017). Early maternal separation induces preference for sucrose and aspartame associated with increased blood glucose and hyperactivity. *Food & Function*, 8(7), 2592-2600.
- Bahi, A., Chandrasekar, V., & Dreyer, J. L. (2014). Selective lentiviral-mediated suppression of microRNA124a in the hippocampus evokes antidepressants-like effects in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 46, 78-87.
- Boyko, M., Kutz, R., Grinshpun, J., Zvenigorodsky, V., Gruenbaum, S. E., Gruenbaum, B. F., ... & Zlotnik, A. (2015). Establishment of an animal model of depression contagion. *Behavioural Brain Research*, 281, 358-363.
- Becker, C., Zeau, B., Rivat, C., Blugeot, A., Hamon, M., & Benoliel, J. J. (2008). Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystokinin. *Molecular Psychiatry*, 13(12), 1079.
- Cohen, S. M., Suutari, B., He, X., Wang, Y., Sanchez, S., Tirko, N. N., ... & Kats, I. (2018). Calmodulin shuttling mediates cytonuclear signaling to trigger experience-dependent transcription and memory. *Nature communications*, 9(1), 2451.
- Contreras, C. M., Rodríguez-Landa, J. F., Gutiérrez-García, A. G., Bernal-Morales, B., & Saavedra, M. (2003). Estudio experimental de la ansiedad y la depresión. *Ciencia*, 54(2), 29-39.
- Coppens, C. M., Siripornmongkolchai, T., Wibrand, K., Alme, M. N., Buwalda, B., De Boer, S. F., ... & Bramham, C. R. (2011). Social defeat during adolescence and adulthood differentially induce BDNF-regulated immediate early genes. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 5.
- Covington, H. E., Lobo, M. K., Maze, I., Vialou, V., Hyman, J. M., Zaman, S., ... & Neve, R. L. (2010). Antidepressant effect of optogenetic stimulation of the medial prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 30(48), 16082-16090.
- Citri, A., & Malenka, R. C. (2008). Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 18-41.

- Chan, J. N. M., Lee, J. C. D., Lee, S. S., Hui, K. K., Chan, A. H., Fung, T. K. H., ... & Ngai, S. P. C. (2017). Interaction effect of social isolation and high dose corticosteroid on neurogenesis and emotional behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 18.
- Chandra, R., & Lobo, M. K. (2017). Beyond Neuronal Activity Markers: Select Immediate Early Genes in Striatal Neuron Subtypes Functionally Mediate Psychostimulant Addiction. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11.
- Chirico, D., Romano, E., Famele, M., Draisci, R., Mancinelli, R., Pascucci, T., & Adriani, W. (2017). Forced but not free-choice nicotine during lactation alters maternal behaviour and noradrenergic system of pups: impact on social behaviour of adolescent isolated male rats. *Neuroscience*.
- Cruz, F. C., Rubio, F. J., & Hope, B. T. (2015). Using c-fos to study neuronal ensembles in corticostriatal circuitry of addiction. *Brain research*, 1628, 157-173.
- Cryan, J. F., Markou, A., & Lucki, I. (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23(5), 238-245.
- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005). Model organisms: the ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature reviews Drug Discovery*, 4(9), 775.
- Danielewicz, J., Trenk, A., & Hess, G. (2017). Imipramine ameliorates early life stress-induced alterations in synaptic plasticity in the rat lateral amygdala. *Behavioural Brain Research*, 317, 319-326.
- Daskalakis, N. P., Bagot, R. C., Parker, K. J., Vinkers, C. H., & de Kloet, E. R. (2013). The three-hit concept of vulnerability and resilience: toward understanding adaptation to early-life adversity outcome. *Psychoneuroendocrinology*, 38(9), 1858-1873
- Del Castillo Rodríguez, J. A. G. (2015). Concepto de vulnerabilidad psicosocial en el ámbito de la salud y las adicciones. *Health and Addictions/Salud y Drogas*, 15(1), 5-14.
- Del Giudice, M., Buck, C. L., Chaby, L. E., Gormally, B. M., Taff, C. C., Thawley, C. J., ... & Wada, H. (2018). What Is Stress? A Systems Perspective. *Integrative and Comparative Biology*, 58(6), 1019-1032.
- Der-Avakian, A., & Markou, A. (2010). Neonatal maternal separation exacerbates the reward-enhancing effect of acute amphetamine administration and the anhedonic effect of repeated social defeat in adult rats. *Neuroscience*, 170(4), 1189-1198.
- Dias-Ferreira, E., Sousa, J. C., Melo, I., Morgado, P., Mesquita, A. R., Cerqueira, J. J., ... & Sousa, N. (2009). Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-making. *Science*, 325(5940), 621-625.
- Dranovsky, A., & Leonardo, E. D. (2012). Is there a role for young hippocampal neurons in adaptation to stress? *Behavioural Brain Research*, 227(2), 371-375.

- Fanselow, M. S., & Dong, H. W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*, 65(1), 7-19.
- Farrell, M. R., Holland, F. H., Shansky, R. M., & Brenhouse, H. C. (2016). Sex-specific effects of early life stress on social interaction and prefrontal cortex dendritic morphology in young rats. *Behavioural Brain Research*, 310, 119-125.
- Franklin, T. B., Saab, B. J., & Mansuy, I. M. (2012). Neural Mechanisms of Stress Resilience and Vulnerability. *Neuron*, 75(5), 747–761. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.08.016>.
- Febbraro F, Svenningsen K, Tran TP, Wiborg O (2017) Neuronal substrates underlying stress resilience and susceptibility in rats. *PloS ONE* 12(6): e0179434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179434>.
- Ferrer, D. P. (2010). Identificación y caracterización funcional de la interacción entre el proto-oncogen c-fos y la proteína centrosomal CEP2/C-NAP1 (Doctoral dissertation, Universitat de València).
- Feyissa, D. D., Aher, Y. D., Engidawork, E., Höger, H., Lubec, G., & Korz, V. (2017). Individual Differences in Male Rats in a Behavioral Test Battery: A Multivariate Statistical Approach. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 26.
- García-Díaz, C., Sánchez-Catalán, M. J., Castro-Salazar, E., García-Avilés, A., Albert-Gascó, H., de la Bárcena, S. S. S., ... & Olucha-Bordonau, F. E. (2019). Nucleus incertus ablation disrupted conspecific recognition and modified immediate early gene expression patterns in 'social brain' circuits of rats. *Behavioural Brain Research*, 356, 332-347.
- Gardner, K. L., Thiruvikraman, K. V., Lightman, S. L., Plotsky, P. M., & Lowry, C. A. (2005). Early life experience alters behavior during social defeat: focus on serotonergic systems. *Neuroscience*, 136(1), 181-191.
- Gardner, K. L., Hale, M. W., Oldfield, S., Lightman, S. L., Plotsky, P. M., & Lowry, C. A. (2009). Adverse experience during early life and adulthood interact to elevate tph2 mRNA expression in serotonergic neurons within the dorsal raphe nucleus. *Neuroscience*, 163(4), 991-1001.
- Genty, J., Nomigni, M. T., Anton, F., & Hanesch, U. (2018). The combination of postnatal maternal separation and social stress in young adulthood does not lead to enhanced inflammatory pain sensitivity and depression-related behavior in rats. *PloS ONE*, 13(8), e0202599.
- Goodell, D. J., Ahern, M. A., Baynard, J., Wall, V. L., & Bland, S. T. (2017). A novel escapable social interaction test reveals that social behavior and mPFC activation during an escapable social encounter are altered by post-weaning social isolation and are dependent on the aggressiveness of the stimulus rat. *Behavioural Brain Research*, 317, 1-15.

- Gore, F., Schwartz, E. C., Brangers, B. C., Aladi, S., Stujenske, J. M., Likhtik, E., ... & Axel, R. (2015). Neural representations of unconditioned stimuli in basolateral amygdala mediate innate and learned responses. *Cell*, 162(1), 134-145.
- González Araujo, R. (2015). Vulnerabilidad y riesgo en salud: ¿Dos conceptos concomitantes? *Revista Novedades en Población*, 11(21), 89-96.
- González-Torres, M. L., López-Espinoza, A., & Valerio Dos Santos, C. (2010). Efecto del tipo y controlabilidad del estrés sobre la conducta alimentaria en ratas. *Revista mexicana de análisis de la conducta*, 36(2), 111-127.
- Gunaydin, L. A., Grosenick, L., Finkelstein, J. C., Kauvar, I. V., Fenno, L. E., Adhikari, A., ... & Tye, K. M. (2014). Natural neural projection dynamics underlying social behavior. *Cell*, 157(7), 1535-1551.
- Harro, J., Tõnissaar, M., Eller, M., Kask, A., & Oreland, L. (2001). Chronic variable stress and partial 5-HT denervation by parachloroamphetamine treatment in the rat: effects on behavior and monoamine neurochemistry. *Brain Research*, 899(1-2), 227-239.
- Jaisinghani, S., & Rosenkranz, J. A. (2015). Repeated social defeat stress enhances the anxiogenic effect of bright light on operant reward-seeking behavior in rats. *Behavioural Brain Research*, 290, 172-179.
- Kaffman, A., & Meaney, M. J. (2007). Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: clinical and research implications of molecular insights. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48(3-4), 224-244.
- Kaczmarek, L., Lapinska-Dzwonek, J., & Szymczak, S. (2002). Matrix metalloproteinases in the adult brain physiology: a link between c-Fos, AP-1 and remodeling of neuronal connections? *The EMBO Journal*, 21(24), 6643-6648.
- Kalman, E., & Keay, K. A. (2017). Hippocampal volume, social interactions, and the expression of the normal repertoire of resident–intruder behavior. *Brain and Behavior*.
- Kolb, B., & Gibb, R. (2015). Plasticity in the prefrontal cortex of adult rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9, 15.
- Koolhaas, J. M., Coppens, C. M., de Boer, S. F., Buwalda, B., Meerlo, P., Timmermans, P. J. (2013) The Resident-intruder Paradigm: A Standardized Test for Aggression, Violence and Social Stress. *J. Vis. Exp.* (77), e4367, doi:10.3791/4367
- Kuniishi, H., Ichisaka, S., Yamamoto, M., Ikubo, N., Matsuda, S., Futora, E., ... & Hata, Y. (2017). Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neuroscience Research*.

- Leff, P., Retana, I., Caballero, A. A., Matus, M., Salazar, A., Arreola, R., & Antón, B. (2004). Understanding the neurobiological mechanisms of learning and memory: cellular, molecular and gene regulation implicated in synaptic plasticity and long-term potentiation. Part IV C. *Salud Mental*, 27(4), 63-87.
- Lin, Y. L., & Wang, S. (2014). Prenatal lipopolysaccharide exposure increases depression-like behaviors and reduces hippocampal neurogenesis in adult rats. *Behavioural Brain Research*, 259, 24-34.
- Liu, Y.-Y., Zhou, X.-Y., Yang, L.-N., Wang, H.-Y., Zhang, Y.-Q., Pu, J.-C., ... Xie, P. (2017). Social defeat stress causes depression-like behavior with metabolite changes in the prefrontal cortex of rats. *PLoS ONE*, 12(4), e0176725. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0176725>
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(6), 434.
- Martisova, E., Solas, M., Horrillo, I., Ortega, J. E., Meana, J. J., Tordera, R. M., & Ramírez, M. J. (2012). Long lasting effects of early-life stress on glutamatergic/GABAergic circuitry in the rat hippocampus. *Neuropharmacology*, 62(5-6), 1944-1953.
- Martinez, M., Calvo-Torrent, A., & Herbert, J. (2002). Mapping brain response to social stress in rodents with c-fos expression: a review. *Stress*, 5(1), 3-13.
- Madariaga J. M., (2014). Entrevista a Cyrulnik B. En junio 2013 por Madariaga J. M. & Arrubukkaga A., *Nuevas miradas sobre la resiliencia: ampliando ámbitos y practicas* (pp. 31-51). Barcelona: Gedisa.
- Manciaux, M., Vanistendael, S., Lecomte, J. y Cyrulnik, B. (2001). La resiliencia: estado de la cuestión. En M.v Manciaux (Ed.), *La resiliencia: resistir y rehacerse*. Madrid: Gedisa, 2003.
- Marco, E. M., Llorente, R., López-Gallardo, M., Mela, V., Llorente-Berzal, Á., Prada, C., & Viveros, M. P. (2015). The maternal deprivation animal model revisited. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 51, 151-163.
- Masrour, F. F., Peeri, M., Azarbayjani, M. A., & Hosseini, M. J. (2018). Voluntary exercise during adolescence mitigated negative the effects of maternal separation stress on the depressive-like behaviors of adult male rats: role of NMDA receptors. *Neurochemical research*, 43(5), 1067-1074.
- McEwen, B. S., & Gianaros, P. J. (2011). Stress-and allostasis-induced brain plasticity. *Annual review of medicine*, 62, 431-445.
- Michaels, C. C., & Holtzman, S. G. (2007). Enhanced sensitivity to naltrexone-induced drinking suppression of fluid intake and sucrose consumption in maternally separated rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(4), 784-796.

- Mizumori, S. J., & Jo, Y. S. (2013). Homeostatic regulation of memory systems and adaptive decisions. *Hippocampus*, 23(11), 1103-1124.
- Miyashita, T., Kubik, S., Lewandowski, G., & Guzowski, J. F. (2008). Networks of neurons, networks of genes: an integrated view of memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(3), 269-284.
- Miyazaki, T., Takase, K., Nakajima, W., Tada, H., Ohya, D., Sano, A., ... & Takahashi, T. (2012). Disrupted cortical function underlies behavior dysfunction due to social isolation. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(7), 2690-2701.
- Montes-Rodríguez, C. J., (2009). "Sueño y sobrevivencia neuronal" (Tesis de doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Montes-Rodríguez, C. J., & Urteaga-Urías, E. (2018). Synaptic plasticity as a substrate of resilience. *Revista de Neurología*, 67(11), 453-460.
- Moreno, A. D., Verdú, S. M., & Caerols. (2017) "Efectos del estrés social sobre la memoria y su modulación farmacológica en ratones" (Tesis doctoral). Universidad de Valencia.
- Molet, J., Maras, P. M., Avishai-Eliner, S., & Baram, T. Z. (2014). Naturalistic rodent models of chronic early-life stress. *Developmental Psychobiology*, 56(8), 1675-1688.
- Nam, H., Clinton, S. M., Jackson, N. L., & Kerman, I. A. (2014). Learned helplessness and social avoidance in the Wistar-Kyoto rat. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 109.
- Nikulina, E. M., Lacagnina, M. J., Fanous, S., Wang, J., & Hammer, R. P. (2012). Intermittent social defeat stress enhances mesocorticolimbic Δ FosB/BDNF co-expression and persistently activates corticotegmental neurons: implication for vulnerability to psychostimulants. *Neuroscience*, 212, 38-48.
- Patel, D., Anilkumar, S., Chattarji, S., & Buwalda, B. (2018). Repeated social stress leads to contrasting patterns of structural plasticity in the amygdala and hippocampus. *Behavioural Brain Research*, 347, 314-324.
- Pacheco, A., Aguayo, F. I., Aliaga, E., Muñoz, M., García-Rojo, G., Olave, F. A., ... & Parra, C. S. (2017). Chronic stress triggers expression of immediate early genes and differentially affects the expression of AMPA and NMDA subunits in dorsal and ventral hippocampus of rats. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 244.
- Patki, G., Solanki, N., & Salim, S. (2014). Witnessing traumatic events causes severe behavioral impairments in rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17(12), 2017-2029.

- Perrin-Terrin, A. S., Jeton, F., Pichon, A., Frugière, A., Richalet, J. P., Bodineau, L., & Voituren, N. (2016). The c-fos protein immunohistological detection: a useful tool as a marker of central pathways involved in specific physiological responses in vivo and ex vivo. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (110), e53613.
- Picatoste, F., & Claro, E (Sin Fecha). Rutas de fosforilación tras la activación de receptores: vía de las MAP quinasas.
- Pilnik, S. D. (2010). El concepto de alostasis: un paso más allá del estrés y la homeostasis. *Rev. Hosp. Ital. B. Aires* (2004), 30(1), 7-12.
- Pinheiro, R. M. C., de Lima, M. N. M., Portal, B. C. D., Busato, S. B., Falavigna, L., Ferreira, R. D. P., ... & Schröder, N. (2015). Long-lasting recognition memory impairment and alterations in brain levels of cytokines and BDNF induced by maternal deprivation: effects of valproic acid and topiramate. *Journal of Neural Transmission*, 122(5), 709-719.
- Pfau, M. L., & Russo, S. J. (2015). Peripheral and central mechanisms of stress resilience. *Neurobiology of stress*, 1, 66-79.
- Pla, D. (2010). Identificación y caracterización funcional de la interacción entre el proto-oncogen c-fos y la proteína centrosomal CEP2/C-NAP1.
- Rana, S., Nam, H., Glover, M. E., Akil, H., Watson, S. J., Clinton, S. M., & Kerman, I. A. (2016). Protective effects of chronic mild stress during adolescence in the low-novelty responder rat. *Stress*, 19(1), 133-138.
- Riga, D., Schmitz, L. J. M., Hoogendijk, W. J. G., Smit, A. B., & Spijker, S. (2017). Temporal profiling of depression vulnerability in a preclinical model of sustained depression. *Scientific Reports*, 7, 8570. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-06984-5>
- Romano-López, A., Méndez-Díaz, M., García, F. G., Regalado-Santiago, C., Ruiz-Contreras, A. E., & Prospéro-García, O. (2016). Maternal separation and early stress cause long-lasting effects on dopaminergic and endocannabinergic systems and alters dendritic morphology in the nucleus accumbens and frontal cortex in rats. *Developmental Neurobiology*, 76(8), 819-831.
- Romero, L. M., Dickens, M. J., & Cyr, N. E. (2009). The reactive scope model—a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. *Hormones and behavior*, 55(3), 375-389
- Rutten, B. P., Hammels, C., Geschwind, N., Menne-Lothmann, C., Pishva, E., Schruers, K., ... & Wichers, M. (2013). Resilience in mental health: linking psychological and neurobiological perspectives. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 128(1), 3-20.
- Russo, S. J., Murrough, J. W., Han, M. H., Charney, D. S., & Nestler, E. J. (2012). Neurobiology of resilience. *Nature Neuroscience*, 15(11), 1475-1484.

- Rygula, R., Abumaria, N., Flügge, G., Fuchs, E., Rüter, E., & Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behavioural Brain Research*, 162(1), 127-134.
- Sáenz, J. C. B., Villagra, O. R., & Trías, J. F. (2006). Factor analysis of forced swimming test, sucrose preference test and open field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behavioural Brain Research*, 169(1), 57-65.
- Sgoifo, A., Koolhaas, J., Alleva, E., Musso, E., & Parmigiani, S. (2001). Social stress. Acute and long-term effects on physiology and behavior. *Physiology & Behavior*, 73(3), 253-254.
- Shalev, U., & Kafkafi, N. (2002). Repeated maternal separation does not alter sucrose-reinforced and open-field behaviors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(1), 115-122.
- Snyder, J. S., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J., & Cameron, H. A. (2011). Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature*, 476(7361), 458-461.
- Stukalin, Y., & Einat, H. (2017). Analyzing test batteries in animal models of psychopathology with multivariate analysis of variance (MANOVA): one possible approach to increase external validity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*.
- Sun, H., Su, R., Zhang, X., Wen, J., Yao, D., Gao, X., ... & Li, H. (2017). Hippocampal GR-and CB1-mediated mGluR5 differentially produces susceptibility and resilience to acute and chronic mild stress in rats. *Neuroscience*.
- Sommerlandt, F. M., Brockmann, A., Rössler, W., & Spaethe, J. (2019). Immediate early genes in social insects: a tool to identify brain regions involved in complex behaviors and molecular processes underlying neuroplasticity. *Cellular and molecular life sciences*, 76(4), 637-651.
- Tischmeyer, W. y R. Grimm. "Activación de genes primarios inmediatos y formación de la memoria". *Cellular and Molecular Life Sciences* 55.4 (1999): 564-574
- Tonegawa, S., Pignatelli, M., Roy, D. S., & Ryan, T. J. (2015). Memory engram storage and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 35, 101-109.
- Tsutsui, K. I., Oyama, K., Nakamura, S., & Iijima, T. (2016). Comparative overview of visuospatial working memory in monkeys and rats. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 10, 99.
- Valdés, M., & De Flores, T. (1985). *Psicobiología del estrés*. Barcelona: Martínez Roca, 2.
- Varga, Z., Csabai, D., Miseta, A., Wiborg, O., & Czéh, B. (2017). Chronic stress affects the number of GABAergic neurons in the orbitofrontal cortex of rats. *Behavioural Brain Research*, 316, 104-114.

- Vidal, J., de Bie, J., Granneman, R. A., Wallinga, A. E., Koolhaas, J. M., & Buwalda, B. (2007). Social stress during adolescence in Wistar rats induces social anxiety in adulthood without affecting brain monoaminergic content and activity. *Physiology & behavior*, 92(5), 824-830.
- Vidal-Gonzalez, I., Vidal-Gonzalez, B., Rauch, S. L., & Quirk, G. J. (2006). Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learning & memory*, 13(6), 728-733.
- Wang, Q., Li, M., Du, W., Shao, F., & Wang, W. (2015). The different effects of maternal separation on spatial learning and reversal learning in rats. *Behavioural Brain Research*, 280, 16-23.
- Wang, M., Perova, Z., Arenkiel, B. R., & Li, B. (2014). Synaptic modifications in the medial prefrontal cortex in susceptibility and resilience to stress. *Journal of Neuroscience*, 34(22), 7485-7492.
- Wood, S. K., Walker, H. E., Valentino, R. J., & Bhatnagar, S. (2010). Individual differences in reactivity to social stress predict susceptibility and resilience to a depressive phenotype: role of corticotropin-releasing factor. *Endocrinology*, 151(4), 1795-1805.
- Xie, L., Korkmaz, K. S., Braun, K., & Bock, J. (2013). Early life stress-induced histone acetylations correlate with activation of the synaptic plasticity genes *Arc* and *Egr1* in the mouse hippocampus. *Journal of Neurochemistry*, 125(3), 457-464.