

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**CONTAGIO EMOCIONAL EN RATAS QUE CONVIVEN CON CONGÉNERES
DEPRIMIDOS**

Por

Federico GARCÍA MINERVA

TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias.
Orientación: Tecnología de los Alimentos.

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2019**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de Mesa:
Dra. Patricia Genovese

Segundo Miembro (Tutor):
Lic. Paul Ruíz

Tercer Miembro:
Dra. Alicia Dib

Cuarto Miembro (Co-Tutor):
Dr. Aldo Calliari

Fecha: 21/03/2019

Autor:
Br. Federico García

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi familia, por todo el apoyo dado a lo largo de la carrera.

A mi tutor, Paul Ruíz, por haber dedicado gran parte de su tiempo y esfuerzo a este trabajo conjuntamente con mi co-tutor, Aldo Calliari, dando la ayuda necesaria en la realización de esta tesis.

A la Facultad de Veterinaria, sus docentes y colaboradores que de una forma u otra han contribuido a mi formación académica.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	Página 2
AGRADECIMIENTOS	Página 3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	Página 6
RESUMEN	Página 8
SUMMARY	Página 9
INTRODUCCIÓN	Página 10
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	Página 14
- ¿QUÉ SON LAS EMOCIONES?	Página 14
- ¿LAS EMOCIONES SE PUEDEN CONTAGIAR?	Página 15
- ¿QUÉ ES LA DEPRESIÓN?	Página 17
- ¿ALGUIEN QUE VIVE CON CONGÉNERES DEPRIMIDOS SE PUEDE DEPRIMIR?.....	Página 17
- ¿PUEDE LA DEPRESIÓN SER MODELADA EN ANIMALES DE LABORATORIO?.....	Página 18
- ¿ES EL USO DE LA RESERPINA UN MODELO VIABLE PARA GENERAR DEPRESIÓN EN ANIMALES?	Página 22
HIPÓTESIS.....	Página 23
OBJETIVOS.....	Página 23
MATERIALES Y MÉTODOS	Página 24
- DISEÑO EXPERIMENTAL	Página 24
- ANIMALES.....	Página 26
- DROGAS.....	Página 26
- PRUEBAS DE COMPORTAMIENTO	Página 27
- MUESTREO Y ANÁLISIS.....	Página 29
RESULTADOS	Página 31
- PESO.....	Página 31
- PRUEBA DE SACAROSA.....	Página 31

- PRUEBA DE CAMPO ABIERTO	Página 33
- PRUEBA DE LABERINTO ELEVADO EN CRUZ	Página 34
-DOPAMINA, DOPAC Y NIVELES DE HORMONA TIROIDEA T4.....	Página 41
DISCUSIÓN	Página 44
CONCLUSIONES	Página 49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Página 50
ANEXO	Página 60

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Lista de Tablas

Tabla 1: Variables comportamentales medidas en el laberinto elevado en cruz. Página 60

Tabla 2: Variables neuroendocrinas (T4, Dopamina, DOPAC) ... Página 61

Lista de Figuras

Figura 1: Diagrama representando el diseño experimental, cinco cajas, con ocho animales cada una. En cuatro de estas cajas seis animales fueron tratados con reserpina (grupo de las deprimidas) mientras que dos convivieron con ellas (grupo de las sociales), y por otra parte se mantuvo otra caja con los controles, sin contacto con ratas deprimidas Página 25

Figura 2: Peso corporal medido en gramos en ratas adolescentes en el día de sacrificio (de 90 días), para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles. Página 31

Figura 3: Consumo de sacarosa (ml/100 gramos de peso) en ratas adolescentes de 90 días, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles. Página 32

Figura 4: Consumo total de líquidos (en mililitros) en ratas adolescentes de 90 días, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles. Página 33

Figura 5: Tiempo caminando en la prueba de campo abierto (en segundos) en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles. Página 34

Figura 6: Latencia para ingresar a los brazos cerrados en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles. Página 36

Figura 7: Tiempo en brazos cerrados cerrados en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles. Página 36

Figura 8: Frecuencia de entradas a los brazos cerrados

en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 37
Figura 9: Tiempo (en segundos) en los brazos abiertos en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 38
Figura 10: Tiempo en extremo de brazos abiertos en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 38
Figura 11: Frecuencia de entrada en brazos abiertos en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 39
Figura 12: Sumatoria de ingresos a brazos abiertos y cerrados en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 40
Figura 13: Tiempo en el centro (en segundos) en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes, para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 40
Figura 14: Niveles de la hormona T4 (tiroxina) en µg/dl para distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.....	Página 42
Figura 15: Niveles de Dopamina en µg/dl para los distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 42
Figura 16: Niveles de DOPAC (ácido 3,4-dehidrofenilacético) medidos en µg/gr dl para los distintos grupos, los tratados con reserpina, el grupo social y los controles.	Página 43

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue analizar la transmisión social del estado de ánimo depresivo en cuarenta ratas Wistar, hembras, adolescentes. Los animales se repartieron en cinco cajas, cada una con ocho animales, donde cuatro cajas contenían seis animales que serían deprimidos farmacológicamente con reserpina y dos que convivirían con ellos sin ser tratados. En la caja restante se ubicaron ocho animales que sirvieron de control. De esta forma se consideraron tres grupos, el de las deprimidas, el de las que convivían con ellas (sociales) y el control. La inducción de depresión se realizó en las ratas que correspondía a partir de la administración de reserpina (de forma IP en cantidades de 1,0 mg/kg cada 48 horas las primeras cuatro dosificaciones y luego una dosis cada cinco días, durante 60 días) mientras que la transmisión social se observó en los congéneres que convivieron con ellas, las sociales (tanto el grupo social como control fueron dosificados IP con suero fisiológico). En el tiempo de cohabitación, que fue de sesenta días, se observaron las consecuencias de este proceso sobre las variables comportamentales medidas en la prueba de campo abierto, la prueba del laberinto en cruz elevado, y prueba de consumo de sacarosa, que fueron desarrolladas en los días veinte, cuarenta y sesenta de la convivencia. Al final de la misma los animales fueron sacrificados para medir variables neurofisiológicas, niveles de dopamina y DOPAC insular y hormona T4. Las ratas dosificadas con reserpina mostraron menor consumo de sacarosa (signo de anhedonia), menor locomoción en campo abierto y en laberinto elevado en cruz, siendo características de depresión, así como niveles más bajos de dopamina y DOPAC que los otros grupos. Los animales que convivieron con las deprimidas con reserpina manifestaron significativamente mayor actividad motora en la prueba de campo abierto y laberinto elevado en cruz que los otros dos grupos mostrando signos de ansiedad, e hiperactividad, pero a su vez se encontró menor consumo significativo de sacarosa y menores niveles de dopamina y DOPAC en relación a los controles. No se alteraron los niveles de T4 entre los grupos. Esto sugiere efectos de contagio social de la depresión desde los individuos alterados farmacológicamente con reserpina a los convivieron con ellos.

SUMMARY

The objective of this study was to analyze the social transmission of the depressive mood in forty female, adolescent, Wistar rats. The animals were distributed in five cages, each one with eight animals. Four of these cages had six rats that were depressed using reserpine, while the other two animals remained without being treated. In the fifth cage eight animals were also located serving as control group. In this way, we had three groups, the depressed with reserpine, the rats living with them (social group) and the control. For the depressed group, reserpine in dosages of 1.0 mg/kg IP were used, every 48 hours the first four doses, and then a new dose every five days, for sixty days. Meanwhile, the social and control group were injected in the same way, but only with a vehicle (physiological saline solution). The behavioral consequences of cohabitation were recorded at days 20, 40 and 60 of the experiment, using the Open Field, the Elevated Plus Maze and the sucrose consumption tests. On the other hand, neurochemical variables were measured after the animals sacrifice, like levels of insular dopamine, DOPAC and T4 hormone. Animals treated with reserpine showed lesser sucrose consumption, as sign of anhedonia, lesser locomotion in the open field and elevated plus maze tests, those being characteristics of depression, and lower levels of dopamine and DOPAC than the other groups. On the other hand, rats living with the depressed mates showed a significant higher motor activity in the open field and in the elevated plus maze test, in regards to control animals, this being a sign of anxiety and hyperactivity. However, a lower sucrose consumption and lower levels of dopamine and DOPAC were also found, although not as low as in the depressed group. T4 hormone levels were not significantly different among the groups. These results suggest a social contagion of depression of the pharmacologically treated animals to those living with them.

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones realizadas por la Organización Mundial de la Salud sobre los efectos económicos de las enfermedades (las llamadas Global Burden of Disease) encontraron que la depresión y sus consecuencias en seres humanos son la principal causa de años de vida perdidos por discapacidad (Organización Mundial de la Salud, 2000; Gómez-Restrepo y col., 2004). Un estudio en el que participaron 200.000 adultos de todo el mundo demostró que la depresión produce el más grande decremento de salud, cuando se compara con otras enfermedades crónicas como la diabetes o la artritis (Moussavi y col., 2007). Es por su importante prevalencia y relevancia económica que investigaciones sobre esta patología son notables. En esta tesis se enfoca el tema de la depresión desde el punto de vista de su contagio, usando como referencia un modelo animal. Contar con modelos animales de psicopatologías es de gran utilidad dado que permite tener un mejor acercamiento a la patogenia y tratamiento de las mismas.

La depresión, a veces llamada trastorno depresivo mayor, es un síndrome neuropsiquiátrico caracterizado por alteraciones celulares y moleculares distribuidas a lo largo de un circuito de substratos neuronales (Krishnan y Nestler, 2008). Existe una gran variedad de enfoques para el tratamiento de esta enfermedad, como las medicaciones antidepressivas, así como formas de psicoterapias (como las terapias cognitivo-conductuales) y otros planteamientos como el ejercicio, yoga y demás. Sin embargo, la depresión sufre un gran déficit de tratamiento en todo el mundo, donde una gran cantidad de individuos que requieren atención no lo reciben (Kohn y col., 2004). El trastorno depresivo causa morbilidad a lo largo de todo el espectro etario (Kessler y col., 2005) y complica el curso de pacientes con enfermedades crónicas (Evans y col., 2005).

El diagnóstico de trastorno depresivo mayor se realiza cuando el paciente demuestra una cierta cantidad de síntomas, que según el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (American Psychiatric Association, 2013) son al menos cinco de los que se nombran a continuación, y que deben manifestarse en un período de dos semanas: estado depresivo, menor interés en actividades que antes resultaban placenteras, ganancia o pérdida de peso, alteraciones en sueño (duerme de más o de menos), agitaciones psicomotoras (como caminar de un lado a otro o retorcer las manos) o discapacidad psicomotora (como lentitud de pensamientos o movimientos), fatiga, sentimientos de culpa o inutilidad, baja capacidad para pensar o concentrarse, pensamientos de muerte o suicidio. A su vez no debe haber otras condiciones médicas, ni tampoco episodios maníacos o hipomaniacos.

En ausencia de un método de diagnóstico más objetivo, como podría ser la biopsia, el uso de biomarcadores, variaciones genéticas o neuroimagen, como pueden ser usados para otras patologías, el sólo conteo de síntomas ofrece obvias limitaciones para el desarrollo de pruebas clínicas, las investigaciones neuropatológicas y el uso de modelos animales, sin embargo, es mediante esas

técnicas que se han logrado avances en lo referente al entendimiento de la neurobiología de la depresión (Krishnan y Nestler, 2008).

Por otro lado, en lo relacionado al contagio, si bien existen particularidades en distintas especies, se puede decir que existen intercambios de información a través de la socialización e influencias mutuas a nivel conductual, a lo que se le llama aprendizaje imitativo, así como a nivel cognitivo, como es el caso de la formación de conceptos, y afectivo en el caso del contagio emocional (González y Ruíz, 2015). El estudio del procesamiento de la información social que incluye la formación e intercambio de dicha información, así como el procesamiento de relaciones entre individuos es estudiado por la cognición social, tanto en humanos como otros animales (González y Ruíz, 2015).

El contagio emocional es un mecanismo afectivo por el cual un organismo sincroniza su estado de comportamiento y emocional con los de otros para promover el comportamiento altruista (Hatfield y col., 1993; Sturm y col., 2013; Ruiz, 2015). Al estar ese proceso de contagio descrito en la especie humana, se entiende que también podría existir en otras especies, ya que los procesos de empatía y simpatía que están asociados al contagio, han sido descritos en otros animales (Chismar, 1988). Estas reacciones motivan la conducta en beneficio de los demás, llamada conducta prosocial. Es, por tanto, una forma de compartir el afecto que está asociado a las formas de empatía y no depende de procesos cognitivos de orden superior (Panksepp y Lahvis, 2011). Nakahashi y Ohtsuki (2017) describen el mecanismo de contagio emocional presente en gran diversidad de organismos, desde bebés humanos, aves, roedores y primates no humanos, entre otros.

Se ha observado que el estado de ánimo de un individuo o grupo de individuos, puede influenciar a otros (Joiner, 1994). En este trabajo se investiga como animales que conviven con otros con conductas que sugieren depresión se puedan contagiar del estado anímico del grupo. En este caso el tipo de contagio a analizar se clasifica como contagio emocional que es la sincronización cognitiva y emocional con otros individuos (Hatfield y col., 1993; Edgar y col., 2012).

Aunque, como se dijo anteriormente, los modelos animales de psicopatologías tienen limitaciones relevantes, ya que no reproducen todos los síntomas de las patologías vistas en humanos (Leite y Perez-Acosta, 2001), se admite que existe una necesidad y una validez de la aplicación de dichos modelos para el estudio de aspectos comportamentales y biológicos de las psicopatologías (Overmier, 2007), ya que permiten ayudar a entender la patología y colaborar en la formación de tratamientos de los signos que reproducen (Escorihuela y Fernández-Teruel, 1998). En la investigación biomédica, un modelo generalmente se describe como una configuración o protocolo experimental (a veces también llamado "paradigma") desarrollado en una especie no humana con el objetivo de replicar las características fisiológicas, fisiopatológicas o de comportamiento de los humanos. En otras disciplinas científicas (por ejemplo, matemáticas o física), el término "modelo" generalmente se refiere a una construcción teórica a partir de la cual se pueden deducir y probar experimentalmente hipótesis específicas. Los modelos

animales de trastornos psiquiátricos pueden pertenecer a ambas categorías (Steimer, 2011).

Hay pocos experimentos en animales de laboratorio donde intenten modelar un proceso relacionado al contagio de depresión. Boyko y col., (2014), idearon una investigación en la que ratas que conviven con congéneres a los que se les indujo un cuadro depresivo por exposición a estrés generado de forma impredecible y crónica alcanzan a mostrar alteraciones, en variables comportamentales, similares a las vistas en los deprimidos. Sin embargo, poco se ha investigado, sobre la neurobiología subyacente a los procesos de contagio emocional (Decety y Chaminade, 2003; Edgar y col., 2012).

Habiéndose realizado estudios sobre el contagio emocional, específicamente de depresión en humanos (Haefel y Hames, 2013), las experiencias en animales, como se dijo anteriormente, son escasas (Boyko y col., 2014; Samberg, 2016) y no combinan pruebas comportamentales con resultados obtenidos de análisis moleculares post-mortem.

Existen investigaciones relacionadas directamente con esta tesis de grado en los que se tratan temas de relevancia para este trabajo. Ruíz, Calliari y Pautassi (2017), siendo los dos primeros, tutor y co-tutor de esta tesis respectivamente, han trabajado con modelos animales con similitudes a los usados en esta tesis. En particular Ruíz y Pautassi (2014c) realizaron trabajos que sirven de apoyo para este estudio, y a los que esta investigación busca complementar. En estos se ha usado la reserpina como método de inducción de la depresión, por su poder para reproducir ciertos rasgos fisiológicos y comportamentales que la patología demuestra en humanos. En uno de los trabajos se evaluaron variables motoras, motivacionales y de consumo de alcohol en ratas adolescentes deprimidas con reserpina, usándose treinta animales, machos de 30 días de vida, a una dosis de 1 mg/kg, de forma diaria durante cuatro días continuos solamente. Similarmente a lo que se realizó en la presente tesis, en ese caso también se evaluaron variables comportamentales con prueba de campo abierto, y de consumo de sacarosa. Los animales inoculados con el fármaco demostraron una caída en su actividad motora y en el consumo total de solución con sacarosa, no encontrando diferencia en la preferencia entre la solución azucarada en comparación con el agua. En otra experiencia, Ruíz y Pautassi (2014b) usaron ratas macho adolescentes para estudiar en ellas la respuesta de ansiedad, asociada al consumo de alcohol. También utilizaron reserpina como fármaco de elección durante cuatro días en dosis de 1 mg/kg, evaluando con la prueba de caja luz/oscuridad la respuesta a la ansiedad. En este experimento intentaron revertir el cuadro al quinto día con la inyección de fluoxetina (usado como antidepresivo) en dosis de 10mg/kg, para ser evaluados en los días siguientes en una prueba de consumo de alcohol de doble botella (donde una botella contenía etanol al 3% y la otra únicamente agua). El resultado mostró un aumento en la latencia de escape y un aumento en el tiempo pasado en la zona iluminada del laberinto para el grupo de ratas dosificadas con reserpina, que podría alterar los procesos de evaluación de riesgo. Esos animales deprimidos además demostraron una mayor preferencia por alcohol. En otro trabajo, Ruíz y Pautassi (2014a) investigaron sobre el contagio emocional entre ratas

adolescentes, estudiando la transmisión social de estados depresivos. Este experimento tuvo gran similitud con el que se desarrolla en la presente tesis, ya que también se formaron cinco grupos de ocho ratas, adolescentes, de treinta días de edad, donde a seis de esos animales se los dosificó con reserpina durante cuatro días en dosis de 1 mg/kg, mientras que a los dos animales restantes se los mantuvo como observadores no tratados. Se usó una prueba de campo abierto para confirmar el estado depresivo en los dosificados, observándose una menor distancia recorrida. Luego de diez días de convivencia, todos los animales se evaluaron en prueba de campo abierto, consumo de alcohol (con prueba de doble botella donde una contenía etanol al 3%) y nado forzado, pero no se demostraron diferencias en las pruebas entre grupos de animales. Estos resultados indicaron una ausencia de influencia social en el estado de ánimo en el tiempo de convivencia de este diseño experimental. Es en base a los resultados de ese trabajo que se decide en la presente tesis aumentar la densidad de animales deprimidos en relación a los sociales buscando aumentar el factor de presión social, así como el tiempo de convivencia entre las ratas buscando así una mayor influencia de unos individuos sobre otros.

Teniendo en cuenta las investigaciones mencionadas anteriormente, se planificó el diseño experimental de la presente tesis. En este contexto, se busca integrar los distintos elementos, estudiando el estado de ánimo, con conductas indicativas de depresión en ratas adolescentes que convivieron con congéneres deprimidos a través de la administración de reserpina, siguiendo un protocolo de dosificación más extenso y un tiempo de convivencia, también más extenso. Finalmente, en esta tesis se agrega la medición de variables neurobiológicas y comportamentales asociadas al estado de ánimo.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

¿Qué son las emociones?

Las emociones son consideradas como la respuesta de todo organismo que implique: una excitación fisiológica; conductas expresivas y una experiencia consciente. Es una reacción subjetiva al ambiente acompañada de cambios orgánicos, de origen innato influidos por la experiencia, así como la respuesta neuronal y hormonal; y se consideran reacciones de tipo adaptativo que afectan a nuestra manera de ser. En el ser humano, la experiencia de una emoción involucra un conjunto de cogniciones, actitudes y creencias sobre el mundo, que utiliza para valorar una situación concreta e influyen en el modo en el que se percibe dicha situación (Davidoff, 1989).

En el caso de los humanos, Seymour Epstein (1984) define una emoción como una compleja y organizada predisposición a participar en ciertas clases de conductas biológicamente adaptativas caracterizada por unos peculiares estados de excitación fisiológica, unos peculiares sentimientos o estados afectivos, un peculiar estado de receptividad, y una peculiar pauta de reacciones expresivas. Brody (1999) por otra parte ve las emociones como sistemas motivacionales con componentes fisiológicos, conductuales, experienciales y cognitivos, que tienen una valencia positiva o negativa, que varían en intensidad, y que suelen estar provocadas por situaciones interpersonales o hechos que merecen atención porque afectan el bienestar de individuo.

A grandes rasgos, la mayor parte de la actividad fisiológica implicada en las emociones es regulada por la división simpática (excitación) y parasimpática (calma) del sistema nervioso autónomo (Davidoff, 1989).

Las emociones se pueden distinguir como emociones primarias, que son consideradas respuestas fundamentalmente fisiológicas, evolutivamente relevantes y biológica y neurológicamente innatas, y, por el contrario, las secundarias que pueden resultar de una combinación de las primarias, estando éstas muy condicionadas social y culturalmente, e incluyen la vergüenza, la decepción, la nostalgia, entre otras. La depresión sería clasificada en este esquema como primaria, como el miedo, la ira o la satisfacción (Bericat, 2012).

En el caso de la depresión con la que se trabaja en esta tesis, esta se encuadra en el concepto de estado de ánimo, diferenciándose éste de la noción de emoción en que no es una situación emocional transitoria, sino un estado de prolongada duración. En relación a las emociones, el estado de ánimo es más duradero, así como también menos específico, menos intenso y menos probable a ser desencadenado por un único estímulo (Thayer, 1989).

¿Las emociones se pueden contagiar?

En diferentes especies se transmite información a través de la socialización y se generan influencias mutuas tanto a nivel conductual (como el aprendizaje imitativo), cognitivo (por ejemplo, formación de conceptos), como afectivo (por ejemplo, contagio emocional). El contagio emocional es un mecanismo afectivo básico por el cual un organismo sincroniza automáticamente sus estados fisiológicos y de comportamiento con los de otros para promover la simulación afectiva y el comportamiento altruista (Hatfield y col., 1993; Sturm y col., 2013). Estas reacciones motivan la conducta prosocial. El mecanismo preciso no se conoce, pero es probable que tenga elementos inconscientes y conscientes. El elemento inconsciente podría relacionarse con el mimetismo automático (Hatfield y col., 1993) y el sistema de neuronas espejo (Ocampo y Kritikos, 2011). A través de la retroalimentación aferente, el receptor siente las expresiones del remitente, y esto conduce a la convergencia emocional (Hatfield y col., 1993). El componente consciente podría deberse a estilos de comunicación compartidos como la co-rumiación, especialmente entre las mujeres jóvenes (Van Zalk y col., 2010). Nummenmaa y col., (2008) tratan el contagio emocional como empatía emocional, para luego unificar la empatía emocional y cognitiva en un proceso único al que denomina sistema de neuronas espejo. Y en relación a las bases neurales de este se refiere al sistema haciendo especial énfasis en la ínsula como estructura que participa en el procesamiento e interiorización de los estados emocionales de los individuos a nuestro alrededor. La ínsula es una estructura encefálica clave en el procesamiento de estado anímicos, emocionales y en el procesamiento de información interoceptiva que, a su vez, retroalimenta los procesos emocionales (Simmons y col., 2012).

Se ha estudiado en modelos animales cómo los individuos intercambian información, y como ésta, los afecta. En la dinámica entre pares cuando los efectos sobre la conducta de los observadores son estimulantes (por ejemplo, por presión social) se denomina facilitación social, y, por otro lado, cuando son directivos se habla de aprendizaje por observación o de efecto demostrador, este en particular es relevante cuando la transmisión de información es entre individuos de distintas jerarquías o edades (Zental y Levine, 1972; Heyes y col., 1994; Choleris y col., 1997; Gonzalez-Pirelli y Ruíz, 2015).

En lo relacionado al efecto demostrador se llama aprendizaje social por imitación donde el observador aprende comportamientos, acciones y respuestas emocionales imitando a un demostrador con el que convive (Heyes y col., 1994). De esta forma, es posible hablar de diferentes procesos asociados a cómo se transmite la información, del tipo cognitiva y emocional entre individuos que interactúan.

Se sabe que los animales de laboratorio tienen la capacidad de ser influenciados emocionalmente por la presencia de congéneres. Cuando a un animal se lo somete a un estado emocional (dolor, por ejemplo) los pares que conviven con

él se ven afectados (De Wall, 2007). A esta respuesta se le llama simpatía (Church, 1959; Decety y Chaminade, 2003). Junto con la simpatía, durante la interacción con otros está el proceso de empatía. Esta puede ser dividida en empatía cognitiva y emocional, donde la primera es asociada a una elaboración cognitiva y la segunda es solamente un reconocimiento emocional, para ambos casos de los estados emocionales que se observan en un congénere. Por otro lado, aparece el concepto de ecpatía, que se define como un proceso mental voluntario de percepción y exclusión de sentimientos, actitudes, pensamientos y motivaciones inducidas por otro. La ecpatía no es lo mismo que la frialdad, indiferencia o dureza afectiva característica de las personas carentes de empatía, sino que es una maniobra o acción mental positiva compensadora de la empatía, y no su mera carencia (Gonzalez, 2005).

Se puede decir que los procesos de transmisión de información y contagio emocional entre distintos congéneres de una misma especie existen desde las ratas, como mínimo, hasta los humanos (De Wall, 2007). Estos procesos están relacionados.

La llamada empatía emocional (o afectiva) puede ser definida como la capacidad de “entender” afectivamente al otro, y se separa en negativa, llamada estrés, y la positiva, que es la denominada energética (Fernandez-Pinto y col., 2008). Algo similar pasa con la simpatía y la ecpatía, que si bien refieren a procesos diferentes, parece haber algo de influencia o contagio por la sola presencia de otro/s individuos (Platania y Moran, 2001). Heyes y Galef (1996) plantean desde una perspectiva evolutiva que las especies animales no humanas pueden ser susceptibles al contagio emocional de la misma manera que los seres humanos y con el mismo resultado. Si este fuera el caso, este proceso sería de gran importancia para la propensión de un animal a producir un comportamiento convergente con el observado en el otro para mostrar facilitación social y obtener beneficios implícitos como pueden ser la reproducción.

El contagio emocional como proceso, aparentemente forma parte de la empatía emocional (es la capacidad de comprender, ser consciente, ser sensible o experimentar los sentimientos, pensamientos y experiencias de otro, sin que esos sentimientos, pensamientos y experiencias hayan sido comunicados de manera objetiva o explícita), la ecpatía (como proceso mental de percepción y exclusión activa de los sentimientos inducidos por otros) y la simpatía (como inclinación hacia lo que siente el otro). A su vez todos relacionados con los procesos sociales de aprendizaje imitativo dado que en la transmisión misma de información existe valoración emocional (Gonzalez, 2005; Ruíz, 2015).

Se reconoce que el estado de ánimo y el comportamiento están significativamente influenciados por las circunstancias sociales y ambientales. En particular, la teoría del contagio social plantea la hipótesis que las emociones pueden comportarse como enfermedades infecciosas que se propagan a través de grupos íntimos en las redes sociales (Hill y col., 2010).

¿Qué es la depresión?

La depresión, es un trastorno de estado de ánimo caracterizado principalmente por la presencia de anhedonia. Su sintomatología en humanos incluye sentimientos persistentes de tristeza o vacío, desesperanza y/o pesimismo, así como sentimientos de culpa, inutilidad, y/o impotencia, o ansiedad (aproximadamente el 70% de los pacientes con depresión también tienen ansiedad, Wu y Fang, 2014). También suele observarse irritabilidad, inquietud, pérdida de interés en las actividades o pasatiempos que antes disfrutaba, incluso las relaciones sexuales, fatiga y falta de energía, dificultad para concentrarse, recordar detalles y para tomar decisiones, insomnio, despertar muy temprano, o dormir demasiado, comer excesivamente o perder el apetito, cólicos, entre otros. Puede haber en algunos casos pensamientos suicidas o intentos de suicidio (Davidoff, 1989).

La depresión mayor es un trastorno multifactorial. La probabilidad de un individuo de sufrir un episodio de esta patología está relacionada con: influencias genéticas, abuso sexual infantil, pérdida prematura de los padres, rasgos de personalidad predisponentes, baja autoestima, exposición a traumas, bajo apoyo social, uso indebido de sustancias, dificultades conyugales, historia previa de depresión mayor y acontecimientos estresantes de la vida recientes (Kendler y col., 2002).

En el caso de algunos animales no humanos hablamos de signos “de tipo depresivo”, en lugar de depresión propiamente dicha, ya que ninguna otra especie presenta las mismas estructuras y procesos mentales de la especie humana, y por lo tanto ningún animal podría reproducir las alteraciones mentales humanas tal como las conocemos.

Entre las variaciones biológicas que se observan en estados como de depresión se ha descrito que neurotransmisores monoaminérgicos como la dopamina, que es uno de los principales neurotransmisores implicados en los trastornos de estado de ánimo (Diehl y Gershon, 1992) tienen niveles alterados. Los niveles de dopamina disminuyen particularmente en corteza insular durante estados depresivos (Salgado-Pineda y col., 2005; Simmons y col., 2012). Por otra parte, a nivel endócrino se han observado alteraciones a nivel de cantidad de hormonas tiroideas liberadas en el torrente sanguíneo, donde individuos hipotiroideos suelen padecer de depresión (Radanović-Grgurić, y col., 2003).

¿Alguien que vive con congéneres deprimidos se puede deprimir?

En un trabajo elaborado por Christakis y Fowler (2013) se examinó la conformación estructural y cualitativa de las redes sociales y los cambios dinámicos

que tuvieron lugar durante un período de treinta y dos años. Los estudios demostraron que había un componente de contagio social para el estado de ánimo que incluye depresión, soledad y felicidad (Christakis y Fowler, 2008, 2013; Hill y col., 2010; Rosenquist y col., 2011). El modelo de Christakis y Fowler (2013) demostró que las personas deprimidas cambiaron el estado de ánimo de los demás después de largos períodos de contacto, y además buscaron a otros con síntomas depresivos. Determinaron incluso que los "amigos de un amigo de un amigo" (hasta tres grados de separación) estaban influenciados por la propagación contagiosa del estado de ánimo (Hill y col., 2010; Rosenquist y col., 2011). En este hallazgo observaron que los amigos fueron significativamente más influyentes que los miembros de la familia en la difusión del estado de ánimo, especialmente entre las mujeres (Rosenquist y col., 2011). Los estados emocionales positivos y negativos se comportaron de una manera similar a la propagación de infecciones a través de las redes sociales. Los efectos fueron acumulativos, con mayores riesgos asociados con un mayor número de contactos con un estado de ánimo bajo o positivo (Hill y col., 2010). Rosenquist y col., (2011) encuentran correlaciones aún mayores en la depresión dentro de los lazos sociales; por ejemplo, tener un amigo cercano que está deprimido se asocia con un aumento del 118% en la probabilidad de la propia depresión. Dos estudios previos en la literatura (Howes y col., 1985; Sanislow y col., 1989) examinan específicamente el contagio de salud mental entre compañeros de estudios universitarios asignados al azar, encontrando que tener un compañero de cuarto con depresión, más otra psicopatología, predice trastornos del estado de ánimo; y que, por otro lado, ser asignado a un compañero de habitación con depresión leve persistente se asocia con un aumento en los síntomas depresivos propios.

¿Puede la depresión ser modelada en animales de laboratorio?

Al ser el síndrome psiquiátrico completo de la depresión único para los humanos, existe el cuestionamiento de si vale la pena inferir algo a partir de modelos animales de depresión. Aunque los síntomas como la culpa o el suicidio podrían ser características puramente humanas, otros aspectos del síndrome depresivo se han replicado en animales de laboratorio, y en varios casos se han mejorado con tratamientos antidepresivos. Éstos incluyen cambios neurovegetativos, como alteraciones en los patrones de sueño y apetito (Krishnan y Nestler, 2008).

Desde una perspectiva evolutiva, se ha propuesto que la depresión es un análogo de la estrategia de derrota involuntaria, que se activa cuando un animal percibe la derrota en una lucha jerárquica por los recursos (Sloman, 2008). Se postula que las características de retraso psicomotor, hiperactividad, anhedonia y trastornos del sueño en el contexto de perder tal lucha tienen una ventaja adaptativa, ya que sirven para proteger a los perdedores de futuros ataques y

centran los activos cognitivos en la planificación para salir de problemas sociales complejos (Nesse, 2000; Watson y Andrews 2002). Algunos modelos animales de depresión pretenden analizar cuantitativamente alguna forma de derrota o desesperación inducida experimentalmente, aunque este aspecto del comportamiento de los mamíferos sea probablemente fisiológico (es decir, adaptable) en lugar de patológico. Además, mientras que el comportamiento de la desesperación a menudo se extrapola como si fuera una depresión, la aplicación de estrés a los roedores también produce cambios similares a la ansiedad que son manifestaciones de la respuesta de lucha o huida (reducción de la exploración, hipertermia inducida por el estrés, etc.). Así como la ansiedad y la depresión a menudo se superponen clínicamente, la distinción entre conductas similares a la depresión inducida por el estrés y conductas parecidas a la ansiedad son difíciles de establecer, particularmente porque ambos tipos de conductas responden a los antidepresivos que se usan en dichos modelos. Por lo tanto, un desafío importante del campo ha sido producir un estado de patología depresiva de larga duración en animales de laboratorio, que rara vez se ha logrado (Krishnan y Nestler, 2008) y es algo que se trata de conseguir en esta tesis.

Los modelos de depresión actuales a menudo se evalúan cumpliendo tres criterios principales: validez aparente (con el requisito de un grado razonable de homología sintomática a los humanos), validez de construcción (o etiológica, el requisito de factores causales similares) y validez farmacológica (dada por la reversión de los síntomas depresivos por los antidepresivos disponibles). Un cuarto criterio potencial es la validez patológica, mediante la cual los modelos animales se validan por su recapitulación de los cambios patológicos o serológicos postmortem conocidos encontrados en pacientes humanos deprimidos. Estos criterios sirven como guías para comparar modelos entre sí, teniendo cada uno sus particularidades, con factores positivos y negativos (Nestler y Hyman 2010).

A continuación, se mencionan modelos animales que trabajan con depresión, sin embargo, en dichas modelos no es relevante el factor contagio entre individuos, es decir, de deprimidos a inicialmente sanos, tema que si se trabaja en esta tesis.

Entre los modelos de estrés agudo se encuentra la prueba de nado forzado y la prueba de suspensión de cola, que son usados en roedores para probar efectos de antidepresivos, y para inferir comportamiento como de depresión (Porsolt, 1977). En ambos la inmovilidad se interpreta como una expresión de desesperanza (Cryan y col., 2005; Lucki y col., 2001), y puede ser revertido con la administración de antidepresivos. Por otro lado, el modelo de indefensión aprendida, en el que después de un estrés incontrolable e ineludible, como las descargas eléctricas, los animales demuestran un estado de impotencia o indefensión tal que cuando se vuelven a exponer a las mismas descargas, ahora con una ruta fácil de escape, los animales tienen una latencia de escape mayor (Seligman y col., 1975). Después de una o varias sesiones de choques eléctricos se ha demostrado que las ratas desarrollan cambios persistentes que incluyen pérdida de peso, alteraciones en los patrones de sueño y actividad del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (Cryan y

Mombereau, 2004; Haddjeri y col., 1998; Nestler y col., 2002). Todas las pruebas asociadas a modelos de estrés agudo son muy sensibles a la manipulación lo que afecta la función motora; y a su vez el modelo de indefensión aprendida es particularmente sensible a las alteraciones en la susceptibilidad al dolor (Cryan y Mombereau, 2004).

Otro tipo de modelos son los llamados de depresión iatrogénica. Uno usa hormonas del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA). Este se activa mediante una amplia variedad de estímulos estresantes, y los aumentos resultantes de los glucocorticoides en suero tienen un papel adaptativo inmediato. Ciertos síntomas de depresión pueden estar mediados por un eje HHA persistentemente hiperactivo, provocado a través de una mayor producción de factor liberador de corticotropina hipotalámica, y reducción de la retroalimentación negativa a nivel de receptores de glucocorticoides expresados (Holsboer y Ising 2010). Se ha encontrado una desregulación del eje HHA en algunos individuos deprimidos., especialmente en aquellos con depresión severa y síntomas psicóticos (Gold y Chrousos, 2002). En contraste, en ciertos cuadros depresivos (asociados principalmente con el aumento del sueño y el apetito) se asocia con concentraciones reducidas de glucocorticoides circulantes y mayor retroalimentación negativa (Krishnan y Nestler 2008), lo que demuestra que las alteraciones en la actividad del eje HHA en cualquier dirección puede dar lugar a características depresivas. Los modelos que usan una función glucocorticoide alterada hacen uso de ratones knockout del receptor de glucocorticoides del prosencéfalo (Boyle y col., 2005). La depresión también se observa comúnmente como un efecto secundario iatrogénico de la administración crónica de glucocorticoides y es un síntoma psiquiátrico clave del síndrome de Cushing, que se caracteriza por hipercortisolemia secundaria a hiperplasia adrenal o hipofisaria. Por lo tanto, las consecuencias negativas de la mayor actividad del eje HHA están relacionadas, al menos parcialmente, con los efectos adversos de los glucocorticoides en sí mismos (McEwen, 2007; Pittenger y Duman 2008). Otro método iatrogénico es mediante el uso de derivados del ácido retinoico, como la isotretinoína (utilizado como un tratamiento efectivo para el acné severo, y asociado con un mayor riesgo de depresión y suicidio (Bremner y McCaffery 2008). Los ratones tratados crónicamente con isotretinoína desarrollan aumentos en la inmovilidad de prueba de nado forzado y la prueba de suspensión de cola. (Crandall y col., 2004; O'Reilly y col., 2006). Un modelo diferente es el que usa citocinas y una desregulación del sistema inmune. Las citocinas proinflamatorias, como el interferón- α , producen una depresión clínicamente significativa como efecto secundario (Loftis y Hauser, 2004). Existe una asociación bidireccional entre la activación inmune y los síntomas depresivos: se ha demostrado que ciertas citocinas inducen un comportamiento similar a la depresión en roedores y primates (Dunn y col., 2005; Felger y col., 2007), y a su vez varios modelos del estrés crónico producen cambios significativos en la función inmune (Miller y col., 2009).

Por otro lado, existen los modelos de estrés crónico. Si bien los paradigmas de estrés agudo se usan ampliamente por su facilidad, y automatización, éstos ofrecen lecturas singulares que a menudo no se pueden interpretar de forma

inequívoca. Por ejemplo, el aumento de la inmovilidad en la prueba de nado forzado a menudo se antropomorfiza como una expresión de desesperación. Sin embargo, también puede entenderse como una respuesta conductual adaptativa que funciona para conservar energía. Los modelos de estrés crónico se distinguen por su capacidad para producir simultáneamente un conjunto de alteraciones del comportamiento con una fuerte validez aparente para la depresión. Sin embargo, esta validez aparente a menudo tiene un bajo rendimiento, ya que para la aplicación precisa de estos modelos de estrés crónico se requiere más espacio y tiempo y tamaños de muestra más grandes y, por consiguiente, son mucho más caros que otros modelos. En esencia, estos modelos se componen de aplicaciones repetidas de un estrés impredecible e incontrolable que se combina con un ensayo cuantificable del comportamiento como de depresión. Se basan en la evidencia clínica que indica que los eventos estresantes que aumentan significativamente el riesgo de episodios depresivos generalmente son de naturaleza crónica (Krishnan y Nestler, 2008). Una crítica respecto a los modelos mencionados anteriormente, basados en el estrés crónico impredecible es su cuestionable validez de construcción, ya que ciertos factores estresantes empleados habitualmente son físicos (por ejemplo, luces estroboscópicas, estrés de restricción o de natación o interrupciones circadianas abruptas) y es poco probable que sean encontrados por los roedores en la naturaleza (Krishnan y Nestler, 2008). Por otro lado están los modelos de estrés psicosocial, que dependen completamente del comportamiento social innato. El tema central en estos modelos, ya sea que se realicen en ratas, ratones, es permitir que dos o más sujetos interactúen social y físicamente, de tal manera que uno alcance un estado dominante (llamado alfa, α) y los demás quedan subordinados (omega, Ω). Mientras que algunos modelos identifican subordinados entre pares de parejas de ratones o díadas (Avgustinovich y col., 2005; Malatynska y Knapp, 2005), otros emplean una estrategia de "subordinación forzada" mediante la cual los roedores agresivos (generalmente más grandes, o animales de cepas más agresivas) se emplean para subordinar consistentemente a otros sujetos (Berton y col., 2006; Covington y Miczek, 2005). Después de múltiples derrotas sociales, los roedores muestran una interacción social reducida, así como una exploración y un comportamiento locomotor disminuidos, así como características de anhedonia (por ejemplo, una menor comportamiento sexual o menor preferencia por la sacarosa), una mayor inmovilidad inducida por el estrés y alteraciones en el eje HHA (Avgustinovich y col., 2005; Krishnan y col., 2007). Los modelos mencionados anteriormente tienen limitaciones en que pueden ser complicados de ejecutar y costosos, además que modelos de derrota social se basan en las diferencias en la agresión entre machos, y no pueden aplicarse directamente en las hembras. Sin embargo, las hembras muestran características similares a la depresión después de otros factores de estrés social, como el amontonamiento o el aislamiento intermitente (Herzog y col., 2009).

El modelo utilizado en esta tesis es de carácter farmacológico, y utiliza la reserpina como método de inducción de depresión.

¿Es el uso de la reserpina un modelo viable para generar depresión en animales?

Entre los animales de laboratorio disponibles para usar como modelo de contagio emocional de depresión puede ser válido emplear *Rattus norvegicus* (a veces llamada rata gris, o rata noruega), ya que las administraciones de fármacos pueden inducir comportamientos similares a los observados en humanos con depresión. (Escorihuela y Fernandez, 1998; Machado-Vieira y col., 2004; Deussing, 2006; Nestler y Hyman, 2010).

Algunos de los componentes de la patología pueden ser modelados mediante la administración de la droga reserpina, un agotador de monoaminas (como lo son la serotonina y dopamina) en el sistema nervioso central. La reserpina inhibe el transportador vesicular de monoaminas, que transporta normalmente las monoaminas libres en el citoplasma a las vesículas sinápticas (Escorihuela y Fernández-Teruel, 1998). De esta manera, las monoaminas quedan vulnerables a acción de las monoamino oxidasas, quienes las degradan. La administración tanto aguda como crónica de esta droga produce en roedores sintomatología semejante a la que experimentan humanos con depresión (Escorihuela y Fernández-Teruel, 1998; Minor y Hanff, 2015; Li y col., 2016; Mohamed, 2016; Ozerov y col., 2016; Socala y col., 2016).

Si bien al modelo de depresión usando reserpina se le pueden encontrar algunos cuestionamientos, como que no reproduce todas las variables influidas en humanos deprimidos, o que dosis elevadas generan aplanamiento motor inespecífico, es uno de los modelos de depresión farmacológica ya usado por el equipo de trabajo de esta tesis (Ruíz y Pautassi, 2014a; 2014b; 2014c; Ruíz, Calliari y Pautassi, 2017), y se puede decir que tiene varias ventajas en relación a otros modelos. Entre ellas está la de bajar los niveles de monoaminas (lo que confiere cierta validez patogénica, en relación a la depresión en humanos), así como ser de fácil instrumentación y sensiblemente más barato en relación a los modelos genéticos (Czéh y col., 2016).

De esta manera, en el presente estudio nos preguntamos si un conjunto de animales deprimidos mediante reserpina logra contagiar ese estado de ánimo a otros presumiblemente normales que cohabitan con los primeros, usando como métodos de evaluación pruebas de comportamiento, así como la cuantificación de variables neurofisiológicas. Por tanto, este trabajo asocia tanto la observación directa de comportamiento de los animales con el estudio de variables moleculares.

HIPÓTESIS

Se plantea que ratas que conviven durante un lapso de tiempo extendido con otras ratas que demuestran comportamiento de tipo depresivo inducido por la administración de reserpina, pueden resultar influenciadas por el solo hecho de convivir con ellas.

OBJETIVOS

Objetivo general.

Evaluar consecuencias del contagio emocional por la convivencia de animales sanos con animales deprimidos.

Objetivos específicos.

- Evaluar fenotipos depresivos en ratas que conviven con ratas deprimidas a través de la prueba de campo abierto.
- Evaluar signos de ansiedad mediante la prueba del laberinto elevado en cruz en ratas que conviven con ratas deprimidas.
- Evaluar anhedonia, como síntoma de depresión en ratas que conviven con deprimidas, usando la prueba de consumo de sacarosa.
- Cuantificar niveles de dopamina en corteza insular en ratas que conviven con ratas deprimidas.
- Cuantificar niveles de ácido 3,4-dehidrofenilacético (DOPAC).
- Cuantificar niveles de hormona tiroidea T4 (tiroxina) en ratas que conviven con ratas deprimidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental.

Aunque cada elemento de la investigación se describe con mayor detalle más adelante, básicamente el experimento implicó la utilización de cuarenta ratas Wistar, hembras, adolescentes de 30 días de edad (Spear, 2000). Estos animales fueron repartidos en cinco cajas, contando cada jaula con ocho individuos. En cuatro de las cinco cajas se tomaron seis individuos de los ocho totales y éstos fueron deprimidos mediante el tratamiento con reserpina, dejando a su vez dos animales en cada una de esas cajas como observadores sin deprimir farmacológicamente, que convivieron con las tratadas con reserpina, pero igualmente inyectados con vehículo, (suero fisiológico). En la quinta y última caja se ubicaron las ratas para formar el llamado grupo de control, que fueron ratas dosificadas con un vehículo únicamente (suero fisiológico). Las cajas se mantienen en esas proporciones durante sesenta días. Esto se diagrama en la Figura 1. De esta forma se podría considerar que se conformaron tres grupos, que fueron en primer lugar los animales tratados con reserpina de forma crónica llamado grupo de los deprimidos o “Reserpina”, conformado por seis individuos de cada caja, exceptuando la jaula de control. Otro grupo estando conformado por los animales que convivieron con los tratados con reserpina (grupo de las sociales, inyectadas únicamente con suero fisiológico). Y por último grupo, el de las ratas que se encontraban en una jaula aparte que fue el grupo control (también inyectadas únicamente con suero fisiológico).

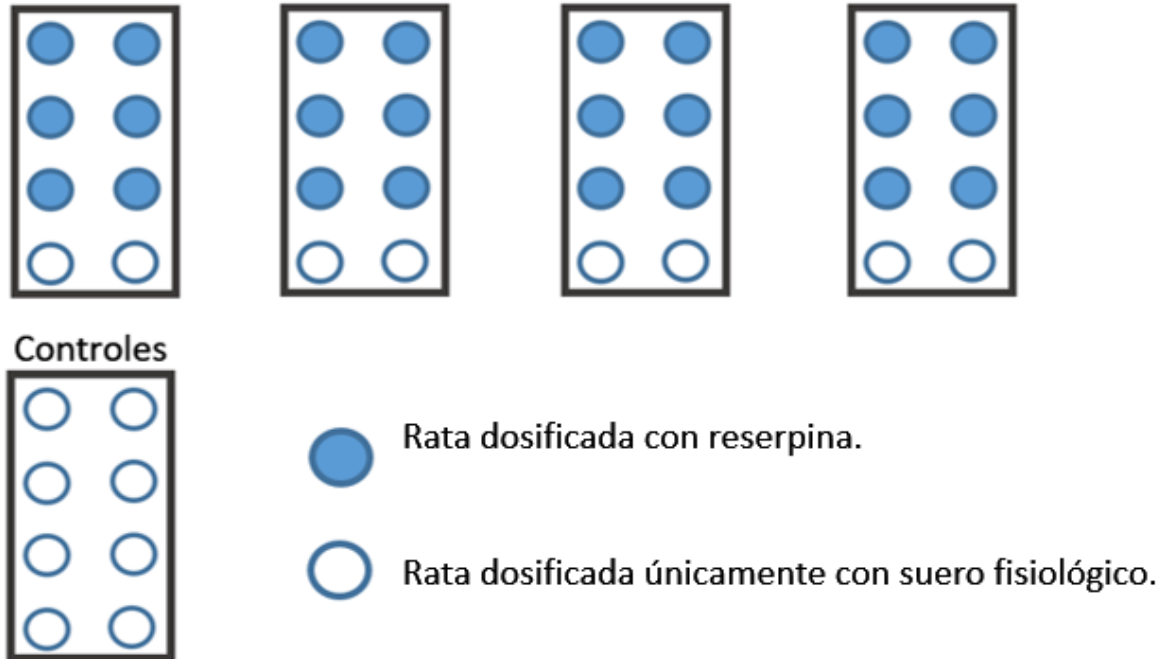


Figura 1: Diagrama representando el diseño experimental, cinco cajas, con ocho animales cada una. En cuatro de estas cajas seis animales fueron tratados con reserpina (grupo de las deprimidas) mientras que dos convivieron con ellas (grupo de las sociales), y por otra parte se mantuvo otra caja con los controles, sin contacto con ratas deprimidas.

A lo largo de los sesenta días se realizaron distintas pruebas de comportamiento, como la prueba de campo abierto, la prueba del laberinto en cruz elevado, y prueba de consumo de sacarosa, que fueron desarrolladas en los días veinte, cuarenta y sesenta desde que se disponen las ratas en cajas.

Para realizar las pruebas de comportamiento, los animales elegidos para participar en ellas fueron los ocho de la jaula del grupo control, los ocho que convivían con los dosificados con la droga (grupo social), de los que había dos en cada caja (exceptuando la jaula de los controles), y un último grupo que es el de las dosificadas con reserpina, conformado también por ocho animales que fueron tomados al azar de a dos por cada jaula (también obviando la caja de los controles).

Una vez finalizadas estas pruebas se sacrificaron los animales para obtener muestras para medir dopamina y DOPAC (ácido 3,4-dehidrofenilacético) en la ínsula y hormonas tiroideas en sangre.

Animales.

Los animales con los que se desarrolló esta experiencia son cuarenta ratas Wistar hembras, ya que éstas resultan más susceptibles a las variaciones emocionales y son más empáticas que los machos (Ben-Ami y col., 2011), y a su vez son más vulnerable a la depresión (Albert, 2015); se eligieron animales de treinta días de edad, equivalente al período de adolescencia en la vida de la rata (Spear, 2000). Se trabajó con animales en esta etapa porque la adolescencia es el período de mayor interacción social en la vida del animal (Varlinskaya y Spear, 2008; Helsen y col., 2000). Se ha identificado al período entre los 28 a 42 días de vida de la rata como correspondientes a principios o mediados de la adolescencia en humanos, siendo la semana anterior (21 a 28 días de vida) considerada como período juvenil, y el intervalo de 46 a 59 días como finales de la adolescencia (Burke y Miczek, 2014; Doremus y Spear, 2016; Karanikas y col., 2013; Spear, 2000).

Estos animales provienen del bioterio del URBE (Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación), de la Facultad de Medicina, UdelaR. La utilización de animales para esta experimentación está aprobada por la Comisión de Ética en el Uso de Animales de la Facultad de Veterinaria (CEUA-FVet-UdelaR), n° 111130-000658-13.

Droga.

Se usó reserpina (elaborada por el laboratorio Sigma-Aldrich, EE.UU.), un inhibidor de la recaptación de catecolaminas y por lo tanto, antagonista de la vía dopaminérgica (Ruíz, Calliari y Pautassi, 2017). Fue utilizado en dosis de 1 mg por kilogramo de peso corporal (1,0 mg/kg) vía intraperitoneal, siendo vehiculizada en solución fisiológica, comenzando con el protocolo farmacológico una semana después de haberse recibido los animales para que cuenten con un período de adaptación. Las primeras cuatro dosis se dieron cada dos días, para luego inyectar una dosis cada cinco días durante dos meses. Es decir, los animales recibieron primeramente una fase de "inducción" de depresión (4 dosis de 1,0 mg/kg de reserpina, cada 48 horas) seguida de una fase de "mantenimiento" del estado psicopatológico presunto (1 dosis de 1,0 mg/kg cada 120 horas aproximadamente, por 60 días).

A los animales controles se les realizó la misma maniobra, en el mismo intervalo de tiempo, por la misma vía, pero utilizando en lugar de reserpina, suero fisiológico únicamente. Estimamos que este protocolo farmacológico es inédito, ya que no existen citas que usen la droga en un diseño como este en la bibliografía.

En las ocasiones de inyecciones también se registró el peso de los animales.

Pruebas de comportamiento.

En paralelo se desarrollaron las pruebas de comportamiento a los veinte, cuarenta y sesenta días posteriores al comienzo de la dosificación. Las pruebas se realizaron en todas las ratas del grupo control, en todas las observadoras (tratamiento social), y en ocho (dos por caja al azar) de las deprimidas.

Se aplicaron;

- La prueba de campo abierto, denominada Open Field (OF) en inglés, es usada para medir actividad motora, exploratoria, respuesta a la novedad, perfil emocional, y es de utilidad para observar efectos estimulantes o depresores de drogas, así como el comportamiento de ansiedad (Boyko y col., 2014; Seibenhener y Wooten, 2015; Tatem y col., 2014; Camarini y Pautassi, 2016). Además, es sensible a alteraciones emocionales y motivacionales (Angrini y col., 1998). En nuestro caso fue utilizado un campo cuadrado de 60x60x60 centímetros fabricado de acrílico opaco, en el que los animales fueron dejados en el centro del mismo de forma manual, y se midió el tiempo en el que las ratas caminaban durante un lapso de diez minutos. El desplazamiento del animal en la prueba anteriormente mencionada fue registrado a través de una cámara de video, cuyo producto fue analizado más tarde. La medición de la actividad de la rata en el campo se realizó desde las grabaciones, y se usó un cronómetro para medir en segundos el tiempo en que los animales mostraban conductas de locomoción.

Previo al experimento los animales tuvieron dos sesiones de habituación (una por día, de 10 minutos de duración cada una). La última sesión de habituación finalizaba 24 horas antes de que empiecen los tratamientos farmacológicos. El propósito de la habituación era reducir la respuesta a la novedad para que las evaluaciones posteriores reflejen solamente los efectos farmacológicos de las drogas bajo análisis. Las actividades se realizaron en laboratorios de experimentación con luz y temperatura controlada. Se consideró como indicador de estado de ánimo depresivo que los dosificados con reserpina recorran menor distancia que los controles (Angrini y col., 1998).

- La prueba del laberinto elevado en cruz (LEC), se usa tradicionalmente para medir conductas de ansiedad (Deussing, 2006; Walf y Frye, 2007), lo que resulta útil observar en este contexto porque la depresión y la ansiedad suelen estar asociados (Lenze y col., 2001; Lamers y col., 2011; Braam y col., 2014). La prueba se basa en la tendencia natural de los roedores de explorar ambientes novedosos, contrastando esto a que tienden a evitar espacios abiertos, especialmente cuando están bien iluminados. En este caso se le da la opción de pasar el tiempo en un sitio aparentemente más protegido (brazo cerrado) o en uno más vulnerable (brazo

abierto) (Walf y Frye, 2007). Un mayor tiempo que el animal pasa en los brazos cerrados se asocia a un bajo grado de ansiedad (Carola y col., 2002). El aparato fue conformado por una plataforma en forma de cruz, elevada a 50 centímetros del suelo, y compuesta por dos brazos abiertos de 50 centímetros de largo y 10 de ancho, y dos cerrados también de 50 x 10 centímetros; con paredes de 40 cm de altura y descubierta en la parte superior. De esta forma los dos brazos abiertos y dos cerrados, se encuentran en una intersección central, donde se depositó el animal al inicio de la prueba, de manera que quede enfrentado a un brazo abierto. Las sesiones se realizaron en la tarde (14:00 a 18:00 horas) en una habitación iluminada con luz natural y aislada acústicamente, durando en total del tiempo de prueba cinco minutos para cada animal. La actividad de los animales fue grabada con una cámara de video, para posterior evaluación. Desde estos archivos se cuantificó el tiempo de latencia (luego de colocarse la rata en el centro se midió el tiempo que demoraba en entrar en un brazo cerrado), el tiempo total que se ubicaba en el centro, el que pasaba en los brazos cerrados, el que se encontraba en los brazos abiertos y por otro lado el tiempo en los extremos de los brazos abiertos; se cuantificó además la cantidad de veces que la rata entraba a los brazos abiertos y a los brazos cerrados, como eventos diferentes. La respuesta ansiosa (tiempo en brazos) y motora (entradas a brazos), está asociada a la depresión, ya que en esta patología la actividad motora está disminuida y asociada con la respuesta ansiosa (Ducottet y Belzung, 2005). La menor latencia de la primera entrada al brazo cerrado y el menor tiempo pasado en los brazos abiertos en relación a los controles fueron considerados índices de respuesta ansiosa (Acevedo y col., 2013; Walf y Frye, 2007). La frecuencia de entradas totales a los brazos fue considerado un índice de locomoción.

- La prueba de consumo de sacarosa, mide la respuesta hedónica, y una caída en los niveles de consumo libre de una sustancia endulzada se considera usualmente un indicador de anhedonia (Brenes y col., 2006). Esta es considerada un signo de depresión (Moreau, 2002) e implica una incapacidad para experimentar placer, o una pérdida de interés en objetos o actividades sobre los cuáles antes se invertía tiempo y esfuerzo (Brenes y col., 2006). Los mamíferos prefieren normalmente bebidas azucaradas (Wilmouth y Spear, 2009). Los animales fueron pesados y luego introducidos en cajas independientes, en donde tuvieron a disposición dos botellas, una solamente con agua y la otra con una solución azucarada (agua con sacarosa al 5%), durante treinta minutos. No se hizo privación de líquidos previo a esta prueba. Se registraron los mililitros consumidos de ambas soluciones y se calculó el porcentaje de preferencia por la sacarosa. Esta prueba fue realizada en ocho animales tratados con reserpina tomados de forma aleatoria de las distintas jaulas, así como en ocho ratas que convivieron con ellos (grupo sociales), y a los controles que estaban en su propia caja (también ocho en total). Esta prueba se hizo en los días 20, 40 y 60 del experimento.

Muestreo y análisis.

Una vez finalizado el periodo de convivencia los animales se pesaron y se sacrificaron por decapitación usando para esta tarea una guillotina. Esto fue en el día 90 postnatal de las ratas, o día 61 de la parte experimental (que había comenzado a los 30 días de vida, equivalente a la adolescencia en esta especie, Spear, 2000). En el sacrificio se muestreó el encéfalo para hacer determinación de dopamina y DOPAC (ácido 3,4-dehidrofenilacético, metabolito de la degradación de la dopamina) a través de HPLC (*high performance liquid chromatography*, o cromatografía líquida de alta eficacia) en la ínsula. El estudio de neurotransmisores, realizado en este caso midiendo las monoaminas (como lo es la dopamina) en la ínsula es de relevancia dado que está relacionado con los estados anímicos de los animales (Siegel y col., 1999). La ínsula se obtiene a partir del cerebro, y fue disecada usando la técnica descrita por Aleksandrov y Fedorova (2003) y luego fue congelada y se mantuvo a -80°C . En el momento del análisis, se descongeló y pesaron los tejidos y luego fueron disociados por sonicación en $1000\ \mu\text{L}$ de ácido perclórico $0,1\text{M}$. Los metabolitos de interés fueron obtenidos del sobrenadante de una centrifugación a $15.000\ \text{g max}$. Se procedió a su cuantificación usando la técnica de HPLC (PM-80 BAS, West Lafayette, IN, EEUU) con una columna C18 con un detector electroquímico (LC-4C BAS) a un flujo de $1.0\ \text{ml/min}$ y una fase móvil compuesta de ácido acético $0,15\ \text{M}$, octil sulfato de sodio $0,6\ \text{M}$, acetonitrilo al 4% y tetrahidrofurano al $1,6\%$, a $\text{pH } 3$, (Abin-Carriquiry y col., 2008). Los resultados se expresaron en nanogramos por gramo de tejido. La medición se llevó a cabo en el Servicio de HPLC y Espectrofotometría del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo.

Por otra parte, en el momento del sacrificio y extracción de ínsulas se obtuvo a su vez sangre ($1,5\ \text{ml}$ por animal) para estudiar la función tiroidea, específicamente midiendo los niveles de la hormona T4 libre (tiroxina, llamada también tetrayodotironina). Este dato, lo consideramos relevante porque se ha observado que en cuadros de depresión en humanos, los niveles de hormonas tiroideas se encuentran por debajo de los normales (Kirkegaard y Faber, 1998). Para ello, utilizamos la técnica de radioinmunoanálisis (RIA), tipo de inmunoensayo que se basa en la formación de complejos antígeno-anticuerpo, lo que le dota de una gran especificidad y sensibilidad. La T4 presente se obtiene de la centrifugación de la sangre durante 20 minutos a 2000 revoluciones por minuto. El suero fue incubado con las hormonas marcadas radioactivamente para luego ser cuantificadas en un contador gamma. Para esto se utilizaron kits comerciales (Laboratorio Siemens, Uruguay) de fase sólida para radioinmunoanálisis obteniendo los niveles de hormona en $\mu\text{g por dL}$ (Damian y Ungerfeld, 2011). Las mediciones se realizaron en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria (UdelaR), Montevideo.

Una vez obtenidos los datos de cada parte experimental se realizaron análisis preliminares de los datos recolectados. Para confirmar normalidad y homogeneidad de varianza se usaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (K-S) y Levene, respectivamente, y mediante análisis descriptivos de simetría y curtosis. Estos análisis indicaron que los datos obtenidos eran pasibles de ser analizados mediante pruebas paramétricas. Consecuentemente, los análisis de diferencias de medidas emplearon mayormente Análisis de Varianza (ANOVA) factoriales o de medidas repetidas. Las variables en las que se usó ANOVA factorial fueron para el peso en el día de sacrificio, los niveles de dopamina insular, DOPAC, niveles de hormona tiroidea T4. Por otro lado, para las variables comportamentales de las distintas pruebas registradas en los días 20, 40 y 60 de la experimentación se analizaron con ANOVA de medidas repetidas. Los efectos significativos principales y las interacciones significativas indicadas por los ANOVA fueron analizadas mediante la prueba post-hoc de Fisher o mediante comparaciones planeadas (denominándolas como "pruebas a posteriori"). En los análisis el factor entre grupos fue tratamiento (tratamiento con reserpina, interacción con animales tratados con reserpina o interacción con animales tratados con vehículo), en tanto que día de evaluación (días 20, 40 y 60 de experimentación) fue el factor de medidas repetidas. De esta forma, en el caso de efectos principales o de interacciones entre factores "entre" grupos empleamos método Fisher. En tanto, se usaron comparaciones planeadas ortogonales para analizar los efectos principales o interacciones significativas que involucraran medidas repetidas. Este procedimiento se realizó ya que se reconoce que no hay una prueba post-hoc que maneje adecuadamente el error tipo I en interacciones entre factores y dentro de los grupos (Winer, 1991). Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados como estadísticamente significativos. El alfa fue de 0,05 y los resultados se expresan como media \pm SEM.

RESULTADOS

Peso

En primer lugar, en cuanto a las mediciones de peso, el resultado se muestra por grupo, estando el llamado control representado por las ocho ratas de su caja, el de las sociales también por ocho ratas, siendo estas las dos de cada caja que convivían con las deprimidas, y por último, el grupo conformado por ocho ratas dosificadas con reserpina, tomadas al azar de a dos de cada jaula. Para las medidas obtenidas en el momento previo al sacrificio, no se observaron diferencias significativas entre ellas (Figura 2). Esta observación es positiva desde el enfoque del bienestar animal, aunque hay que aclarar que en humanos deprimidos existe una tendencia a la alteración del peso. Algunos autores como Averbukh y col., (2003), describen correlaciones positivas entre pérdidas de peso y depresión en humanos, incluso describiendo que aquellas personas con mayores niveles de depresión pierden más peso.

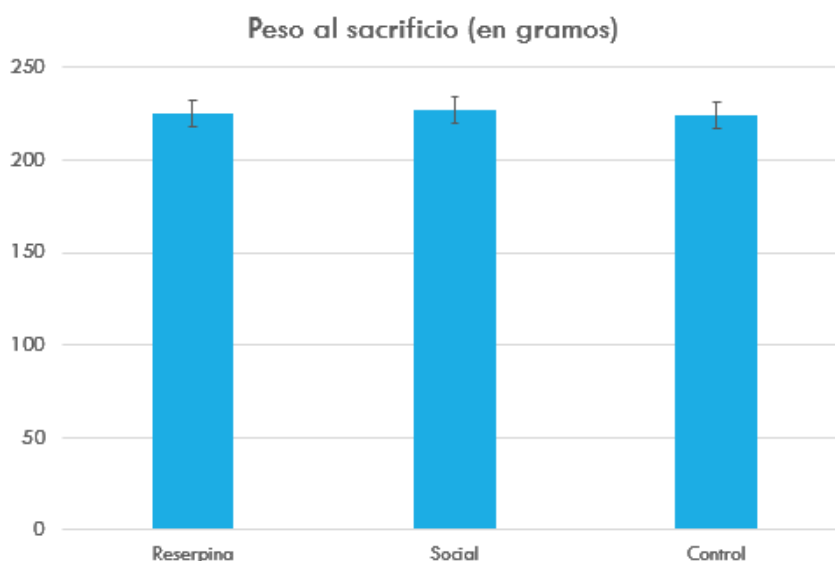


Figura 2: Peso corporal medido en gramos en ratas adolescentes en el día de sacrificio a los 90 días de edad para los tres grupos (deprimidas con reserpina, las que convivían con ellas y el grupo control). No hubo diferencias significativas entre los grupos. Los valores expresan las medias \pm error estándar.

Prueba de Sacarosa

En lo relacionado a la prueba de sacarosa se midió el consumo de dos botellas de agua o sacarosa al 5% durante 30 minutos, estando la sacarosa en solución con agua, teniendo en cuenta que no hubo una privación de líquidos previa

a dicha prueba. Se diagramaron los datos agrupando por un lado ocho animales que fueron tratados con reserpina (tomados al azar de las distintas cajas), ocho que convivieron con ellos (sociales) y a los ocho controles que vivían en una jaula separados, el grupo control. La prueba se hizo en los días 20, 40 y 60.

El consumo de agua con sacarosa al 5% en relación al consumo total de líquidos es otro dato relevante para conocer la preferencia de sustancias. En los animales dosificados con reserpina esa predilección fue de 42%, en el grupo de los que convivieron con ellas fue de 45%, mientras que en el grupo control fue de 41%. El ANOVA de medidas repetidas mostró que el consumo de sacarosa (mililitros/100 gramos de peso corporal) estuvo significativamente afectado por el tratamiento, ya que el efecto significativo principal de tratamiento fue $[F_{(2,21)}=12,631, p<0,001]$, y que dicho efecto fue similar a lo largo de las tres evaluaciones. El análisis post-hoc con la prueba de Fisher demostró que fueron los animales del grupo de control los que más consumieron. Asimismo, es importante destacar que las ratas tratadas con reserpina consumieron, a lo largo de las evaluaciones, significativamente menos sacarosa que los que convivían con ellos, las del grupo social (Figura 3).

También se encontró un efecto del tratamiento en el consumo total de líquidos $[F_{(2,21)}=3,7770, p<0,05]$ donde los controles tomaron mayor cantidad que los tratados tanto con reserpina como con los que convivían con estos (Figura 4).

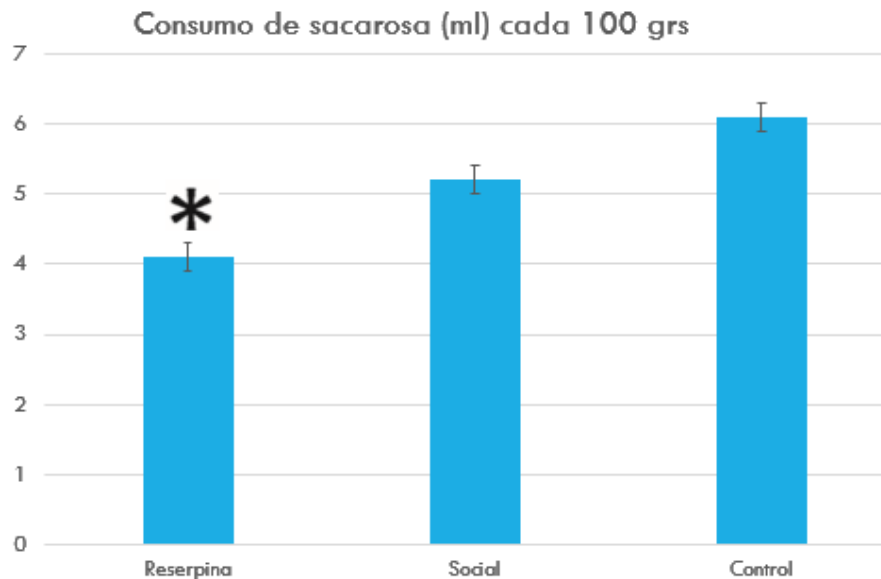


Figura 3: Consumo de agua con sacarosa al 5% (ml/100 gramos de peso) en ratas adolescentes, de 90 días de edad, en grupo tratado con reserpina, las que convivieron con ellas (grupo social) y los controles no tratados. Los dosificados con reserpina tomaron significativamente menos que los otros grupos, que no difirieron significativamente entre ellos. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores muestran las medias \pm error estándar del promedio de las sesiones (en los días 20, 40 y 60). Hubo ausencia de efectos significativos principales o interacciones significativas involucrando el factor sesión (esto es, en días 20, 40 y 60).

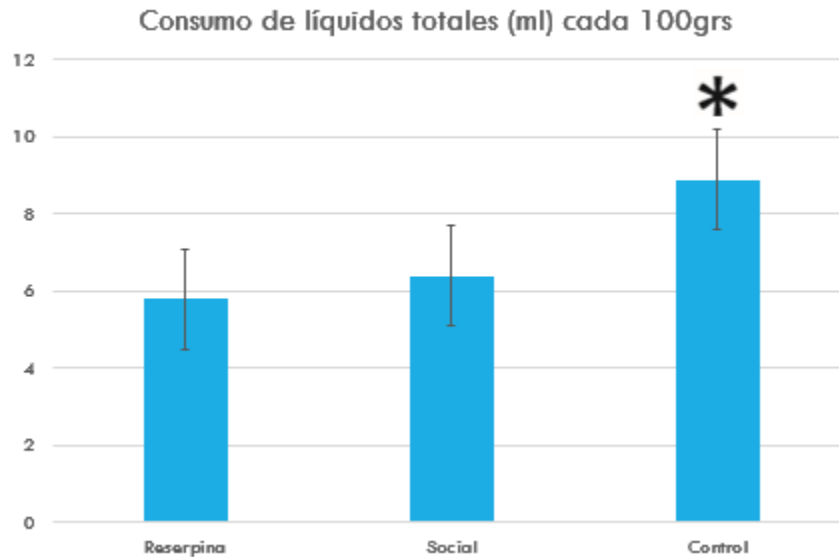


Figura 4: Consumo total de líquidos (en mililitros) en ratas adolescentes de 90 días, en grupo tratado con reserpina, las que convivieron con ellas (grupo social) y los controles no tratados. Los controles consumieron significativamente más que los otros dos grupos, quienes no difirieron entre sí. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores muestran las medias±error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60). Hubo ausencia de efectos significativos principales o interacciones significativas involucrando el factor sesión (esto es, en los días de medición 20, 40 y 60).

Campo abierto

Aplicada durante diez minutos los días de experimentación 20, 40 y 60, en ocho animales inyectados con reserpina elegidos al azar, así como a ocho que convivieron con ellos (los sociales), y a los controles (también ocho). Los datos se registraron a partir de la grabación de la prueba, contabilizando los segundos que las ratas caminaron.

El ANOVA de medidas repetidas demostró un efecto significativo de tratamiento en el tiempo usado en recorrer el campo abierto [$F_{(2,21)}=17,056$, $p<0,001$]. En la prueba post-hoc de Fisher se ve que los animales que convivieron con los tratados con reserpina (grupo social) exhibieron, a lo largo de las instancias de evaluación, significativamente más tiempo en movimiento que los controles y que los tratados con reserpina, mientras los tratados con reserpina exhibieron significativamente menos que controles (Figura 5).

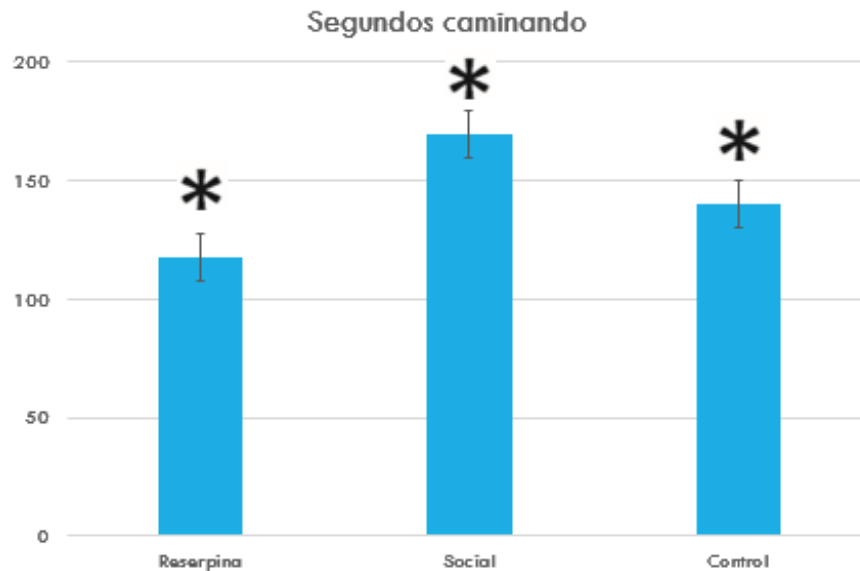


Figura 5: Tiempo caminando en la prueba de campo abierto (en segundos) en ratas adolescentes de 90 días, en grupo tratado con reserpina, las que convivieron con ellas (grupo social) y los controles no tratados. El grupo social caminó más que los tratados y los controles. A su vez, estos últimos caminaron más que los dosificados. Las diferencias significativas se indican con asteriscos. Los valores expresan las medias \pm error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60). Hubo ausencia de efectos significativos principales o interacciones significativas involucrando el factor sesión (esto es, en los días de medición 20, 40 y 60).

Laberinto elevado en cruz

Esta prueba duró un tiempo de cinco minutos, para ocho ratas tratadas con reserpina elegidas al azar, otras ocho que convivieron con las anteriores (sociales) y los ocho controles. También se hizo en los días 20, 40 y 60 de empezado el tratamiento. Los valores numéricos de las medias y errores de todas las variables pueden observarse, promediados a través de las tres jornadas de evaluación, en la Tabla 1, ubicada en el anexo.

El ANOVA para estos valores encontró un efecto no significativo de tratamiento, pero que aun así marcó una tendencia [$F_{(2,21)}=2,8543$, $p=0,08$] en el análisis de la latencia para entrar a los brazos cerrados, esto es el tiempo en entrar en dichos brazos. Los animales tratados con reserpina exhibieron una mayor latencia, que sus pares de los otros grupos (Figura 6).

Además se observó un efecto de tratamiento en el tiempo que las ratas pasaron en los brazos cerrados [$F_{(2,21)}=4,0385$, $p<0,05$], ya que los animales

dosificados con reserpina y los que convivieron con ellos estuvieron significativamente menos tiempo en estos, comparados con los controles, en dichos brazos (Figura 7). Por otro lado hubo un significativo efecto del tratamiento en la frecuencia de entradas a los brazos cerrados [$F_{(2,21)}=17,573$, $p<0,001$]. La prueba post-hoc de Fisher sirvió para ver que los animales tratados con reserpina hicieron significativamente menos entradas en los brazos cerrados, y los sociales significativamente más, en relación a los controles (Figura 8).

Otro estudio ANOVA vio además que tanto los inyectados con reserpina, como las ratas del grupo social estuvieron un tiempo similar sobre los brazos abiertos, y que para ambos grupos ese tiempo fue mayor que para las del grupo de control (Figura 9). Más allá de esto, se pudo observar además un efecto del tratamiento [$F_{(2,21)}=12,215$, $p<0,001$] sobre la frecuencia de entradas a los brazos abiertos, donde los animales que convivieron con los tratados con reserpina (grupo social) exhibieron significativamente más de esta conducta que los dosificados con la droga y los controles (Figura 11).

Se vio además que en cuanto a la suma de los ingresos a los brazos cerrados y abiertos (Figura 12), en relación a la actividad motora, el estudio mostró un efecto significativo de tratamiento [$F_{(2,21)}=15,843$, $p<0,001$]. La prueba post-hoc de Fisher arrojó que las ratas tratadas con reserpina tuvieron significativamente menos actividad que los sociales ($p<0,0001$) y que los animales del grupo social a su vez tuvieron significativamente más actividad que los del grupo control ($p<0,01$).

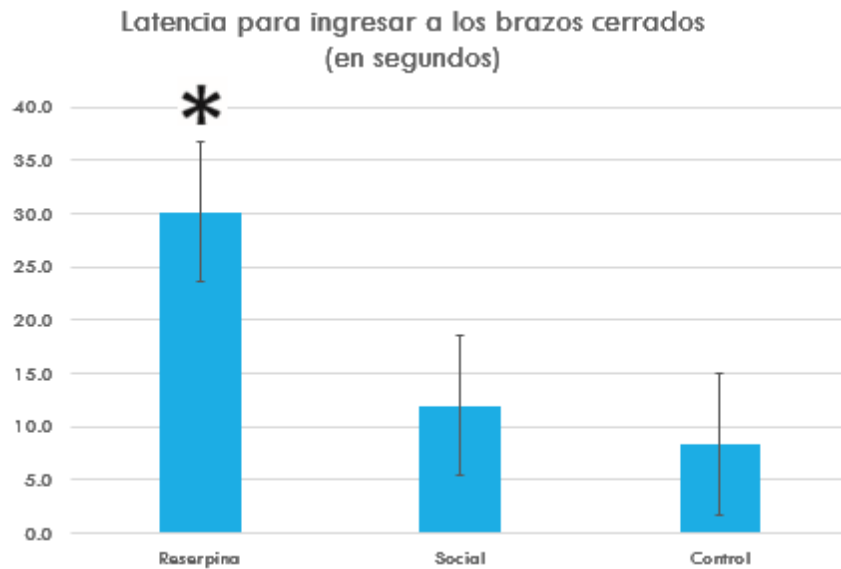


Figura 6: Latencia para ingresar a los brazos cerrados en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Los animales dosificados con reserpina demostraron una significativa mayor latencia para entrar en los brazos cerrados, mientras que los animales que convivieron con ellos (sociales) tuvieron una tendencia no significativa mayor a las del grupo control. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores expresan las medias \pm error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre las mismas.

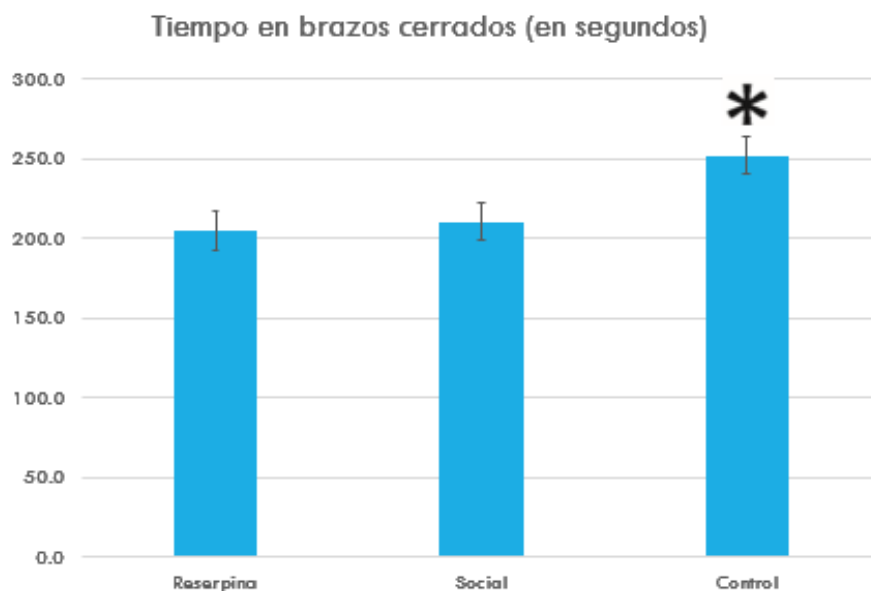


Figura 7: Tiempo en brazos cerrados en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con

ellas (grupo social) y de controles no tratados. Las ratas del grupo control se mantuvieron un tiempo mayor en los brazos cerrados de forma significativa, en relación a los otros grupos, mientras que las tratadas y las del grupo social alcanzaron tiempos similares, sin tener una diferencia significativa entre ellas. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores expresan las medias±error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre las mismas.

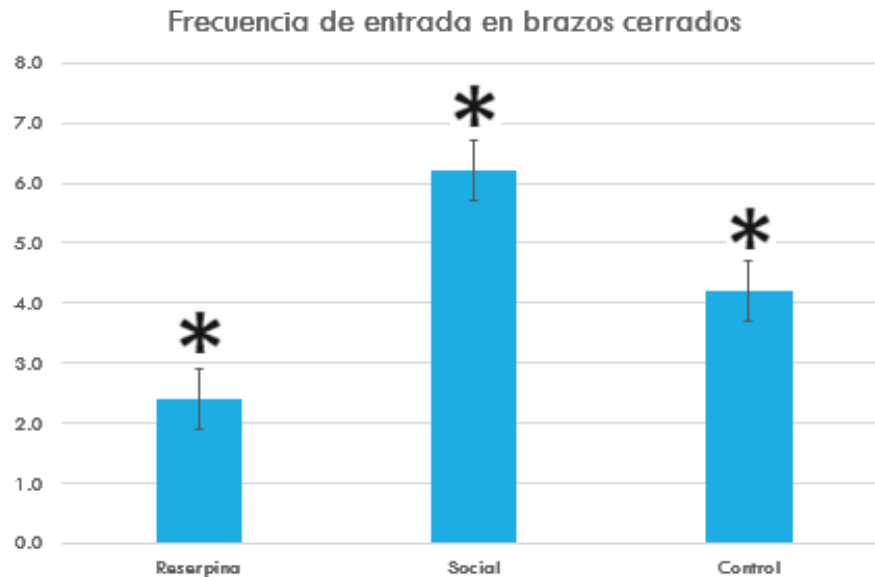


Figura 8: Frecuencia de entradas a los brazos cerrados en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Los dosificados con reserpina hicieron significativamente menos ingresos que los controles, y por otro lado, los que conviven con los deprimidos alcanzan a hacer más ingresos que los otros dos grupos. Las diferencias significativas se indican con asteriscos. Los valores expresan las medias±error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre las mismas.

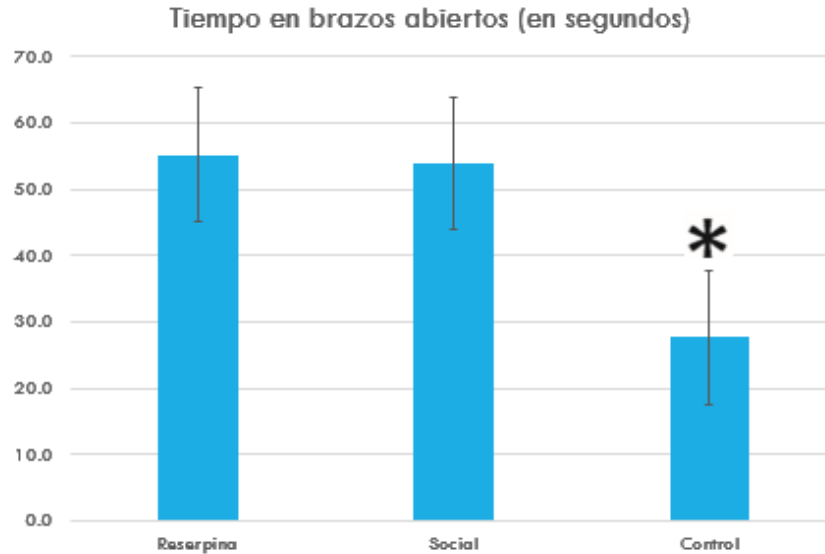


Figura 9: Tiempo (en segundos) en los brazos abiertos en el laberinto elevado en cruz en ratas tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Hubo una diferencia significativa del grupo de control respecto al resto. Los dosificados con reserpina y los que convivieron con ellas tuvieron una tendencia a estar más tiempo en los brazos abiertos que los animales del grupo control, pero no difirieron entre ellos de forma significativa. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores expresan las medias \pm error estándar del promedio de las sesiones (días de medición 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre las mismas.

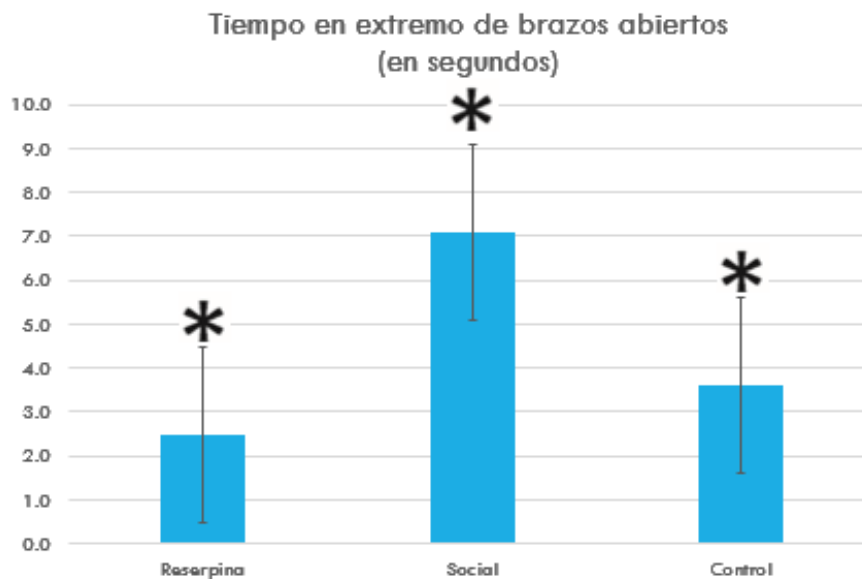


Figura 10: Tiempo en extremo de brazos abiertos en el laberinto elevado en cruz en ratas tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. El grupo de las ratas sociales mostró de forma acentuada un mayor tiempo en extremo de brazo abierto en relación a los

otros dos grupos, mientras que el control tuvo mayor tiempo en extremo que los tratados con reserpina. Las diferencias significativas se indican con asteriscos. Los valores expresan las medias \pm error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre las mismas.

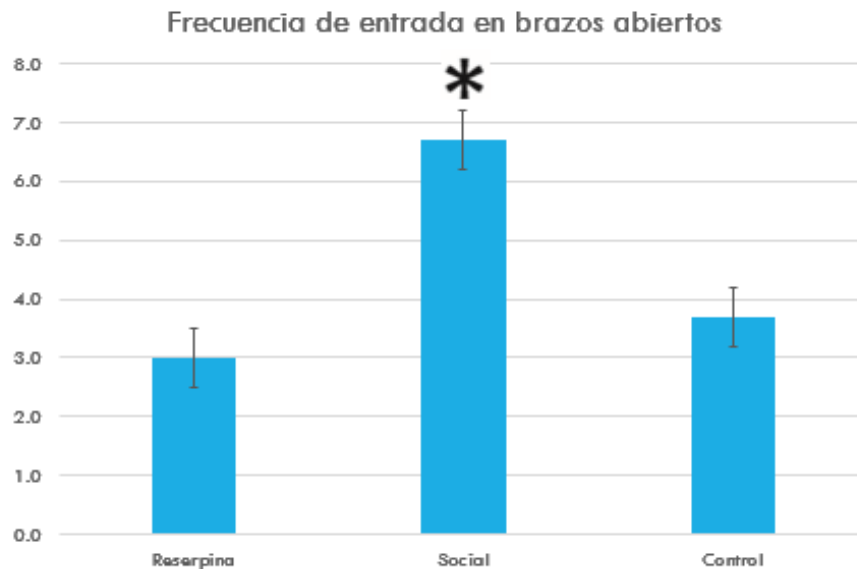


Figura 11: Frecuencia de entrada en brazos abiertos en el laberinto elevado en cruz en ratas tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Las ratas del grupo social tuvieron de forma significativa más cantidad de entrada en brazos abiertos que los otros dos grupos, que no se diferenciaron significativamente uno de otro. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores expresan las medias \pm error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre las mismas.

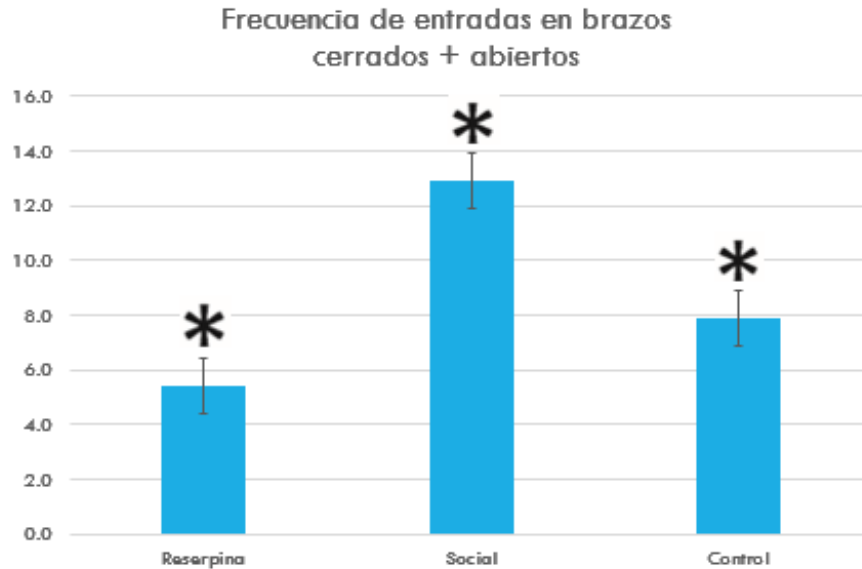


Figura 12: Sumatoria de entradas a brazos abiertos y cerrados en el laberinto elevado en cruz en ratas tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Los dosificados con reserpina tuvieron menos ingresos que los grupos de los controles y los sociales, mientras que estos últimos tuvieron más entradas que los controles. Las diferencias significativas se indican con asteriscos. Los valores expresan las medias \pm error estándar del promedio de las sesiones (medidas en días 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre ellas.

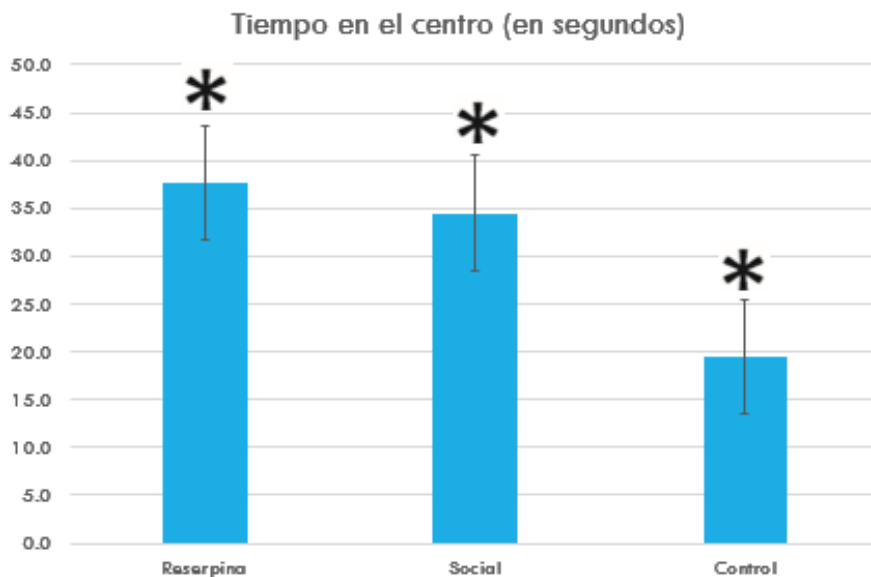


Figura 13: Tiempo en el centro (en segundos) en el laberinto elevado en cruz en ratas tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Aquellos animales dosificados con la droga pasaron significativamente más tiempo en el centro, pero a su vez las sociales tuvieron significativamente más tiempo que las del grupo control. Las diferencias

significativas se indican con asteriscos. Los valores expresan las medias±error estándar del promedio de las sesiones (días 20, 40 y 60) sin verse diferencia entre las mismas.

Dopamina, DOPAC y niveles de hormona tiroidea T4.

La evaluación de estos marcadores biológicos se realizó luego del sacrificio de los animales. Para el análisis de la hormona T4 se tomó sangre, usando el suero en un ensayo de RIA obteniendo resultados en µg/dl. Para la cuantificación de dopamina y DOPAC se obtuvo la corteza insular y mediante HPLC se calculó niveles en µg/gr de tejido. Las medias y los errores para cada variable de cada condición están resumidos en la tabla 2, que se encuentra en el anexo.

El uso de ANOVA no dio diferencias significativas para los niveles de hormona T4 entre los distintos grupos (Figura 14). Por otro lado, para los niveles de dopamina se observó un efecto significativo de tratamiento [$F_{(2,21)}=5,64$, $p<0,01$]. El post-hoc indicó que el grupo dosificado con reserpina tuvo significativamente menos dopamina que los controles ($p<0,05$). Además, los animales que convivieron con los tratados con reserpina, llamadas sociales, tendieron a mostrar menos dopamina que los controles, pero no alcanzaron niveles de significancia ($p=0,06$). No se vieron diferencias significativas entre los dosificados con reserpina y el grupo de las sociales (Figura 15).

El análisis de DOPAC (metabolito de dopamina) también mostró un efecto significativo dado por el tratamiento [$F_{(2,21)}=9,16$, $p<0,001$], indicando con la prueba de Fisher que las tratadas con reserpina tuvieron significativamente menos cantidad de este metabolito que el grupo control ($p<0,001$), de la misma forma que las sociales que también alcanzaron significativamente menos cantidad que el control ($p<0,05$), Figura 16. Esto demuestra que la menor cantidad de dopamina del grupo tratado con reserpina se debe a una menor producción de la misma y no a un aumento de la degradación, concluyéndose eso por la relación entre DOPAC/Dopamina (indicadora de la relación degradación/producción de dopamina, Papadopoulou y col., 1992) donde no se vieron diferencias significativas entre los grupos.

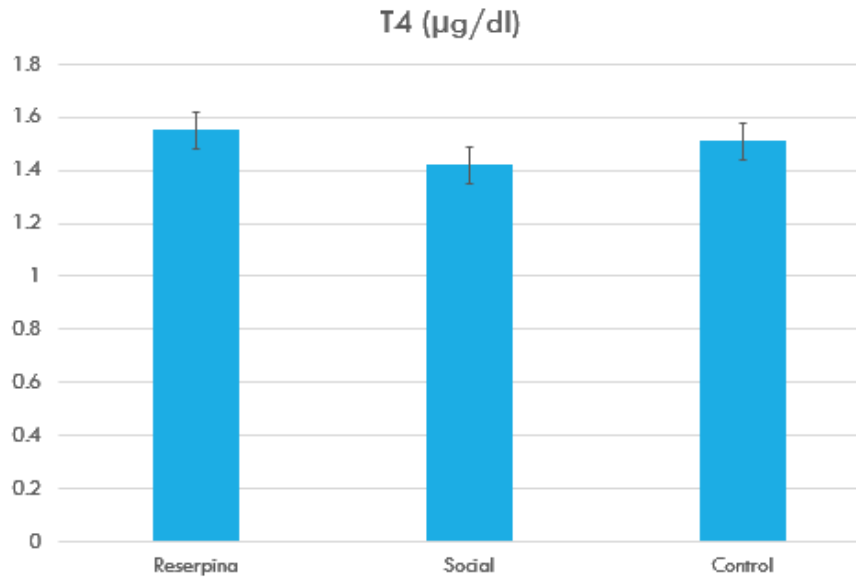


Figura 14: Niveles de la hormona T4 (tiroxina) en µg/dl, para los distintos grupos de animales que fueron las tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Los valores no alcanzaron diferencias significativas entre grupos. Los valores expresan las medias±error.

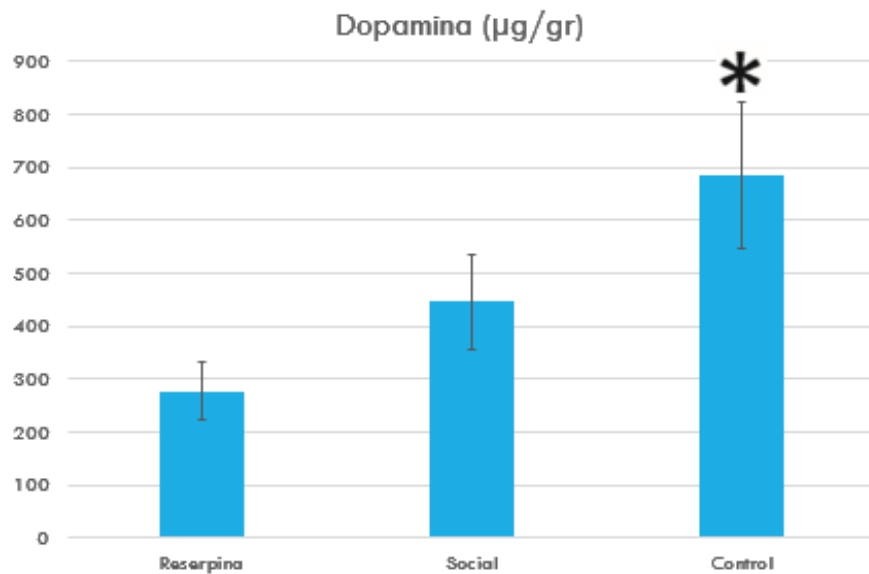


Figura 15: Niveles de Dopamina en µg/dl para los distintos grupos de animales que fueron las tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Hubo una diferencia significativa entre los controles y los demás grupos (alcanzaron niveles más altos de dopamina). No se observaron diferencias significativas entre el grupo de los dosificados y las sociales, aunque las tratadas con el fármaco tuvieron una tendencia a niveles más bajos del neurotransmisor. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores expresan las medias±error.

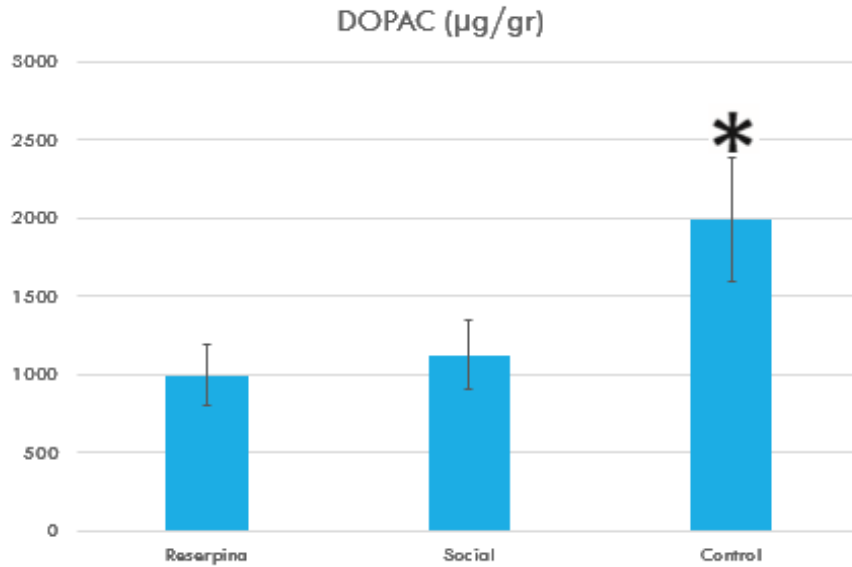


Figura 16: Niveles de DOPAC (ácido 3,4-dehidrofenilacético) medidos en $\mu\text{g}/\text{gr}$ dl para los distintos grupos de animales que fueron las tratadas con reserpina, así como de los animales que convivieron con ellas (grupo social) y de controles no tratados. Hubo una diferencia significativa entre el grupo control y los otros dos, que no difieren significativamente entre ellos. De cualquier manera, se aprecia una tendencia en que las tratadas con reserpina tienen los valores más bajos. La diferencia significativa se indica con un asterisco. Los valores expresan las medias \pm error.

DISCUSIÓN

Los modelos animales son una herramienta importante para investigar los mecanismos subyacentes a diversas enfermedades, para probar nuevas estrategias, métodos de tratamiento, y para evaluar la eficacia potencial de las intervenciones terapéuticas. Por lo tanto, los modelos animales válidos de la depresión por contagio pueden tener implicaciones significativas que permiten investigaciones adicionales de la fisiopatología y el tratamiento de este trastorno. La naturaleza compleja y dinámica de las relaciones humanas hace que sea difícil cuantificar el efecto del contagio emocional del estado de ánimo a nivel de la población. Los modelos animales de contagio pueden ayudar a comprender mejor los mecanismos de este fenómeno único y desarrollar estrategias terapéuticas, (Overmier, 2007).

Los trastornos mentales, como la depresión, son difíciles de replicar en un animal de laboratorio, esto es porque se caracterizan por trastornos específicos en funciones que son propias de los humanos. Sin embargo, un enfoque general para trabajar con modelos animales es reproducir síntomas particulares de enfermedades mentales en el laboratorio (Steimer, 2011).

Los experimentos realizados para la redacción de esta tesis tienen un enfoque innovador en relación a los existentes, ya que combinan pruebas comportamentales con resultados obtenidos de análisis moleculares post-mortem, y de esta forma se asocian las distintas variables para estudiar el proceso de contagio en ratas adolescentes, con algunas de sus consecuencias comportamentales.

El contagio emocional puede ser definido como la capacidad de sincronizar el estado emocional del individuo con relación al de la mayoría de los individuos que lo rodean, existiendo bibliografía sobre lo mismo tanto en humanos como en animales no humanos (Ruíz, 2015; Nakahashi y Ohtsuki, 2017; Huber y col., 2017). Los experimentos en animales existentes tienen limitaciones, especialmente por la poca cantidad o relevancia de los marcadores biológicos que fueron estudiados (Boyko y col., 2014; Samberg, 2016). En humanos hay más reportes existentes como investigaciones en que el contagio de emociones “positivas” mejoraba la cooperación y disminuía conflictos en grupos de personas (Barsade, 2002), y que la vulnerabilidad es un factor de riesgo para la depresión (Haefel y Hames, 2013).

Desde una perspectiva neurológica en lo relacionado al contagio también existen escasos reportes. En humanos Sturm y col., (2013) encontraron evidencias de contagio emocional en pacientes con Alzheimer vinculando los datos con los daños dados por esta patología. Samberg (2016) por su lado, reporta que ratas que convivieron con pares que habían sido deprimidas a través de una derrota social vieron afectados los niveles de una proteína asociada a los procesos adictivos y psicopatológicos, la Δ fosB. Esto se dio en áreas del cerebro asociadas con la depresión.

Originalmente, la hipótesis planteaba que animales que convivan con animales deprimidos farmacológicamente con reserpina exhibirían signos de depresión, aún sin haber recibido exposición a la droga directamente o a eventos estresantes explícitos de otros tipos. De esta forma, basados en la escasa bibliografía sobre contagio emocional en animales de laboratorio (Boyko y col., 2014; Samberg, 2016) se experimentó usando como referencia las investigaciones desarrolladas por Ruíz y Pautassi (2014b; 2014c), Ruíz, Calliari y Pautassi (2017), y en especial Ruíz y Pautassi (2014a), en donde en dicha experiencia, los autores no habían observado influencia social en el estado de ánimo de ratas adolescentes, de treinta días de edad, dosificándolas con reserpina durante el tiempo de convivencia previsto que fue de unos diez días, en los que se usaron cuatro dosis de 1 mg/kg. De esta forma, esa investigación sirvió como base en la elección de la proporción de animales deprimidos en relación a los que convivían sin dosificar, resolviéndose para el experimento de esta tesis usar una relación que permita condiciones de gran presión social, para así dar mayores posibilidades de interacción entre los dosificados con reserpina y los que no fueron tratados en cada jaula, donde seis de ocho individuos fueron los deprimidos farmacológicamente. El cambio más importante en relación a la investigación mencionada anteriormente fue el tiempo de convivencia entre deprimidos mediante farmacología y los sujetos experimentales inicialmente sanos, ahora elevando ese lapso a sesenta días, así como el aumento en la cantidad de dosificaciones con reserpina que se hicieron a lo largo de ese lapso, resultando esto particularmente novedoso ya que no existía en la bibliografía un protocolo de aplicación de reserpina tan amplio como el usado. La intención de este diseño fue así aumentar las probabilidades de poder observar cambios comportamentales en las ratas a lo largo del tiempo en las distintas pruebas comportamentales.

En cuanto al trabajo de Ruíz y Pautassi (2014c), en el que también se usó reserpina como método de inducción de depresión (en total, cuatro dosis de 1 mg/kg en cada inyección IP), y a partir de esto se evaluó el consumo de etanol (al 3%) en ratas adolescentes; podría ser de interés aplicar un protocolo más extendido, en relación a las dosificaciones, como el usado en esta tesis, para intentar ver la diferencia en el consumo de alcohol entre grupos de animales deprimidos, animales que convivan con esos y grupos sin deprimir, y como el consumo de etanol varía en el tiempo en los distintos animales.

Con relación a las observaciones de comportamiento en vistas esta tesis, los resultados mostraron que, de acuerdo a lo esperado, los animales tratados con reserpina desarrollaron un fenotipo caracterizado por la depresión comportamental; esto fue expresado por el menor tiempo caminado en el campo abierto, menor cantidad de ingresos en brazos en el laberinto elevado en cruz y un menor consumo general de líquidos en la prueba de solución glucosada en aquellos animales dosificados con la droga. Es probable que esta baja generalizada en el consumo de líquidos y la menor actividad del sistema de dopamina indiquen un estadio de anhedonia (Brenes y col., 2006), que caracteriza a la depresión. Podría argumentarse que este fenotipo, el cual estuvo asociado a menores concentraciones de dopamina en ínsula, es reminiscente de lo observado clínicamente en depresión.

Por otro lado, una de las apreciaciones más interesantes observadas a través de los datos obtenidos son el perfil comportamental y neuroendocrino alcanzado en las ratas que convivieron con las tratadas con reserpina. Estas fueron las que desarrollaron un cuadro particular, donde asemeja a lo esperado en la mayoría de los aspectos a las deprimidas, pero no en otros, donde las diferencias fueron el mayor tiempo caminado en prueba de campo abierto, y más cantidad de ingresos en brazos abiertos y cerrados, lo que demuestra una mayor locomoción en laberinto elevado en cruz. Se puede decir entonces que estas ratas sociales manifestaron características de un comportamiento comparable a la depresión, con rasgos semejantes a la ansiedad e hiperactividad, mientras que, para el caso de otras variables, como los niveles de dopamina en ínsula, sus valores se homologan a estados depresivos de las dosificadas con reserpina.

Podría argumentarse que los resultados fueron dados por un efecto sedativo motor muscular por parte de la reserpina, o de una alteración del desarrollo corporal inducido por la droga, ya que esta fue administrada durante la adolescencia, o que esto fuera independiente de sus efectos sobre el comportamiento. Si bien no se puede descartar totalmente esta posibilidad, protocolos en otras investigaciones preliminares desarrolladas por el equipo Ruíz, Calliari y Pautassi en las que fue utilizada la reserpina como método de inducción de depresión, usaron la prueba de la barra, que evalúa equilibrio, coordinación y actividad motora en roedores (Rosso y col., 2010) y con la utilización de esta droga no se notaron diferencias en agarre o tono muscular en la barra (Deacon, 2013), atribuibles a lo que podía ser planteado anteriormente, es decir, alteraciones motoras graves, o de la masa o fuerza muscular, aunque debe ser aclarado que el protocolo de uso de reserpina nunca ha sido tan extendido en el tiempo como en el caso del planteado en esta tesis.

También es importante destacar que no todas las variables registradas reprodujeron las que se registran en cuadros de depresión en humanos. Una de las posibles argumentaciones en cuanto al cuadro de depresión apreciado, sería que no es totalmente homologable a los criterios diagnósticos de depresión en humanos o que es un cuadro análogo. En el humano existe una superposición entre los estados de depresión y ansiedad, en donde ambas condiciones presentan un estado de disforia (estado de ánimo desagradable caracterizado por tristeza e irritabilidad). Este solapamiento ocurre por afectividad negativa, por una predisposición genética compartida entre determinados individuos o por una neurobiología común a estos estados (Goodwin, 2015). Estudios de modelo de estrés crónico leve inducido en animales, similares a los que se usan para el estudio de depresión, observaron que el comportamiento asociado era ambiguo, en algunas investigaciones se percibía un aumento de ansiedad luego de ocasionarles estrés (Maslova y col., 2002; Griebel y col., 2002), mientras que en otros disminuía (D'Aquila y col., 1994; Kopp y col., 1999). Estas contradicciones no son sorprendentes, ya que la depresión puede caracterizarse por un estado de alta ansiedad o por una pérdida de interés en el ambiente indicado por reacciones demostrativas a situaciones estresantes (Kompagne y col., 2008). En el caso de esta tesis, observamos en los animales del grupo social signos de depresión (anhedonia), reconocido por un menor consumo de solución azucarada en relación al grupo de control, aunque aun así no alcanzaron los niveles del grupo de las

tratadas con reserpina, mientras que en la prueba de campo abierto se vio un resultado contrastante a lo esperado, dado por un mayor desplazamiento de las sociales en relación a los controles y las deprimidas. Se esperaba un desplazamiento que debería ser semejante al del grupo de las deprimidas (o por lo menos, menor tiempo caminado que controles). En el caso de laberinto elevado en cruz las sociales presentaron una mayor latencia para entrar en brazos cerrados que los controles, en donde las deprimidas manifestaron una latencia superior entre los grupos, como era de esperarse. Esto se podría justificar por el desinterés en el ambiente que rodea al animal que se daría en depresión. A su vez, el grupo de las ratas sociales fueron los que pasaron más tiempo en el extremo de brazo abierto (demostrando una mayor predisposición a la exploración, al moverse por el sitio más vulnerable del laberinto). De esta forma se podría cuestionar la presencia de un comportamiento ansioso en las sociales en esta prueba, ya que los ansiosos evitarían la exploración y preferirían los brazos cerrados (D'Aquila y col., 1994), y en este caso fueron los controles quienes estuvieron más tiempo en ese sitio. Otra forma de interpretar ese dato, resultaría si se entiende esa mayor actividad en el extremo de los brazos abiertos como un intento de escape, algo que si se encuadraría dentro del marco del comportamiento ansioso (Steimer, 2011). Igualmente, a considerar de esta prueba fue que las sociales tuvieron un mayor desplazamiento en el laberinto, dado por una mayor frecuencia de entrada a los brazos abiertos y cerrados, también difiriendo con lo esperado en ratas deprimidas (donde se observa un menor movimiento). Por tanto, se puede decir que las ratas del grupo social demostraron un comportamiento consistente con un cuadro depresivo, similar a las tratadas con reserpina en prueba de la sacarosa, pero revelaron un comportamiento distinto a lo esperado en animales deprimidos en la prueba de campo abierto y laberinto elevado en cruz, donde manifestaron una mayor locomoción.

Una crítica posible en la ejecución de la prueba campo abierto podría ser la falta de diferenciación del tiempo que las ratas se desplazaron en la periferia con relación al centro del campo (relación periferia/centro), debido a la ausencia de demarcación entre los sectores, o de un software que asista en la realización de esta tarea (Belovicova y col., 2018). Dicha medida podría haberse utilizado como indicador de una posible ansiedad, aunque la aparición de este comportamiento no se sospechaba en la planificación de las pruebas experimentales.

En otro aspecto, se puede considerar además que no hubo diferencias relevantes entre el peso de los distintos grupos, ni siquiera entre deprimidas y controles. En humanos deprimidos algunos autores han asociado de forma positiva la depresión con la pérdida de peso del individuo (Averbukh, y col., 2003) mientras que, en otros estudios, se lo relaciona a un aumento de peso y obesidad. Luppino y col., (2010) en un meta análisis describe cómo personas deprimidas ganan peso con el paso del tiempo, pero remarca que existe una asociación en el otro sentido, donde individuos obesos tienen más probabilidades de encontrarse deprimidos. Sutin y Zonderman, (2012) describen cómo mujeres que experimentan síntomas de depresión tienden a ganar más peso en la adultez que los hombres con tales síntomas. Es por esto que existe la posibilidad que la diferencia en la ganancia de

peso se pueda dar más adelante en la vida del animal, si se diera un mayor tiempo de vida que el ofrecido para las ratas en esta tesis.

No se observaron alteraciones importantes en los niveles de hormona tiroidea entre los grupos de ratas (en humanos hipotiroideos, donde los niveles de T4 son bajos, se aprecian síntomas depresivos, Radanović-Grgurić, y col., 2003). Se vio además la disminución de los niveles de dopamina y DOPAC en animales tratados con reserpina, pero el resultado original fue que también las ratas que convivieron con las dosificadas con la droga disminuyeron los niveles de dopamina y DOPAC en relación a los controles, aunque en una menor magnitud. La relación DOPAC/Dopamina, que muestra la relación degradación/producción del neurotransmisor (Papadopoulou y col., 1992), indicó que la menor cantidad de dopamina encontrada era debida a una menor producción de la misma, y no por un aumento en la degradación del neurotransmisor. Esto demuestra una homologación entre los resultados esperados para el grupo de animales deprimidos, y lo que se esperaba encontrar en animales contagiados con el estado de ánimo depresivo, ya que los niveles de dopamina también bajan en ínsula en humanos deprimidos (Salgado-Pineda y col., 2005; Simmons y col., 2012). Chang y Grace (2014) examinaron en sus experimentos como el estrés crónico alteraba la actividad motora tanto en las pruebas de laberinto elevado en cruz, y de nado forzado, y concluyeron que dichas alteraciones se asociaban a un menor disparo espontáneo de neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral. Las alteraciones dopaminérgicas se suprimieron por el bloqueo de la vía entre amígdala basolateral y pálido ventral, sabiendo que la ínsula tiene conexiones con la amígdala de forma tanto aferente como eferente (Mufson y col., 1981). La disminución de la actividad dopaminérgica puede ser consecuencia de una actividad aumentada en el sistema opiáceo kappa, que señala efectos de estrés y actúa en la etiopatogenia de distintas enfermedades psiquiátricas en humanos, pero dentro de las relevantes a este trabajo, son los trastornos de ansiedad, así como el estrés. El sistema kappa funciona como mediador de estados de estrés y disforia, siendo la activación prolongada en el tiempo de este sistema kappa también asociada a la depresión y ansiedad (Crowley y Kash, 2015).

Se pueden nombrar otras limitaciones de esta investigación a destacar. En nuestro paradigma experimental, donde se cuenta con períodos de convivencia prolongada, la jerarquía puede ser un factor influyente en los grupos sociales de animales (Boyko y col., 2014). Además, en esta tesis se tomaron como sujetos de experimento solo ratas hembra, por lo que los resultados encontrados no necesariamente se podrían generalizar a machos. También puede ser válido considerar que las pruebas de comportamiento se realizaron durante el día, aunque los roedores de laboratorio son animales nocturnos y la importancia de los estímulos ambientales, así como la percepción y la respuesta a los mismos, pueden ser una función de sus períodos de actividad. En un trabajo de Aslani y col., (2014) que usan como método de depresión un modelo de estrés crónico, se demostró que cuando la exposición a estresores ocurre durante la fase de luz del ciclo del día (que sería el período de descanso de las ratas en la naturaleza), los animales muestran signos de comportamiento depresivo y relacionado con la ansiedad, sin embargo, este

fenotipo no se observó cuando se aplicaron las mismas pruebas durante el período oscuro (donde el animal estaría activo en la naturaleza).

Por otra parte, y conociendo el protocolo de administración de reserpina, se deja abierta la pregunta sobre cuáles serían los resultados con una dosis mayor o con un protocolo más intensivo. En último lugar en esta tesis se investigó únicamente la posibilidad de transmisión de estados como de depresión, y no de emociones “positivas”, existiendo la pregunta que si estas emociones no se contagian de la misma forma (Kelly y col., 2016).

CONCLUSIÓN

De cualquier manera, se puede concluir que ratas que conviven con ratas deprimidas tienden a expresar signos de trastorno de ánimo comparables a la depresión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Abin-Carriquiry, JA.; Costa, G.; Urbanavicius, J.; Cassels, BK.; Rebolledo-Fuentes, M.; Wonnacott, S.; Dajas F. (2008). In vivo modulation of dopaminergic nigrostriatal pathways by cytosine derivatives: implications for Parkinson's Disease. *Eur J Pharmacol*; 589:80-84.
- 2) Acevedo, M.; Nizhnikov, M.; Spear, N.; Molina, J.; Pautassi, R. (2013). Ethanol-induced locomotor activity in adolescent rats and the relationship with ethanol-induced conditioned place preference and conditioned taste aversion. *Dev Psychobiol*; 55:429-442.
- 3) Albert, P. (2015). Why is depression more prevalent in women? *J Psychiatry Neurosci*; 40:219–221.
- 4) Aleksandrov, V.; Fedorova, K. (2003). Structure of the Insular Region of the Rat Neocortex. *Neurosci Behav Physiol*; 33:199-202.
- 5) American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5a. ed. Washington, ed. American Psychiatric Publishing, 991 p.
- 6) Angrini, M.; Leslie, J.; Shephard, R. (1998). Effects of Propranolol, Buspirone, pCPA, Reserpine, and Chlordiazepoxide on Open-Field Behavior. *Pharmacol Biochem Behav*; 59:387–397.
- 7) Aslani, S.; Harb, M.; Costa, P.; Almeida, O.; Sousa, N.; Palha, J. (2014). Day and night: diurnal phase influences the response to chronic mild stress. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*; 8: 82.
- 8) Averbukh, Y.; Heshka, S.; El-Shoreya, H.; Flancbaum, L.; Geliebter, A., Kamel, S.; Pi-Sunyer, F.; Laferrere, B. (2003). Depression score predicts weights loss following Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg*; 13:833–836.
- 9) Avgustinovich, D.; Kovalenko, I.; Kudryavtseva, N. (2005). A model of anxious depression: persistence of behavioral pathology. *Neurosci Behav Physiol*; 35:917-924.
- 10) Barsade, S. (2002). The Ripple Effect: Emotional Contagion and Its Influence on Group Behavior. *Adm Sci Q*; 47:644-675.
- 11) Belovicova, K.; Bogi, E.; Csatlosova, K.; Dubovicky, M. (2018). Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdiscip Toxicol*; 10: 40-43.
- 12) Ben-Ami, I.; Decety, J.; Mason, P. (2011). Empathy and Pro-Social Behavior in Rats. *Science*; 34:1427-1430.
- 13) Bericat, E. (2012). Emociones. *Sociopedia.isa*, 13p. DOI:10. 1177/205684601261. Disponible en: www.sagepub.net/isa/resources/pdf/Emociones.pdf. Fecha de consulta: 19 de febrero de 2019.
- 14) Berton, O.; McClung, C.; Dileone, R.; Krishnan, V.; Renthal, W.; Russo, S.; Graham, D.; Tsenkova, N.; Bolanos, C.; Rios, M.; Monteggia, L.; Self, D.; Nestler,

- E. (2006). Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science*; 311:864-868.
- 15) Boyko, M.; Kutz, R.; Grinshpuna, J.; Zvenigorodskya, V.; Gruenbaumb, S.; Gruenbaumb, B.; Brotfain, E.; Shapira, Y.; Zlotnika, A. (2014). Establishment of an animal model of depression contagion. *Behav Brain Res*; 281:358-363.
 - 16) Boyle, M.; Brewer, J.; Funatsu, M.; Wozniak, D.; Tsien, J.; Izumi, Y.; Muglia, L. (2005). Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 102:473-478.
 - 17) Braam, A.; Copland, J.; Delespaul, P.; Beekman, A.; Como, A.; Dewey, M.; Fichter, M.; Holwerda, T.; Lawlor, B.; Lobo, A.; Magnússon, H.; Prince, M.; Reischies, F.; Wilson, K.; Skoog, I. (2014). Depression, subthreshold depression and comorbid anxiety symptoms in older Europeans: results from EURODEP concerted action. *J Affect Disord*; 155:266-272.
 - 18) Bremner, J.; McCaffery, P. (2008). The neurobiology of retinoic acid in affective disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*; 32:315-331.
 - 19) Brenes, J.; Rodríguez, O.; Villagraa, O; Fornaguera. J. (2006). Factor analysis of Forced Swimming test, Sucrose Preference test and Open Field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behav Brain Res*; 169:57–65.
 - 20) Brody, L. (1999). *Gender, Emotion, and the Family*. Cambridge, ed, Harvard University Press, 364 p.
 - 21) Burke, A.; Miczek, K. (2014). Stress in adolescence and drugs of abuse in rodent models: Role of dopamine, CRF, and HPA axis. *Psychopharmacology (Berl)*; 231:1557–1580
 - 22) Camarini, R.; Pautassi, R. (2016). Behavioral sensitization to ethanol: Neural basis and factors that influence its acquisition and expression. *Brain Res Bul*; 125:53–78.
 - 23) Carola, V.; D'Olimpio, F.; Brunamonti, E.; Mangia, F.; Renzi, P. (2002) Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behav. Brain Res*; 134:49–57.
 - 24) Chang CH.; Grace A. (2014). Amygdala-ventral pallidum pathway decreases dopamine activity after chronic mild stress in rats. *Biol Psychiatry*, 76:223-30.
 - 25) Chismar, D. (1988). Empathy and sympathy: The important difference. *J Value Inq*; 22:257–266.
 - 26) Choleris, E.; Guo, C.; Liu, H.; Mainardi, M.; Valsecchi, P. (1997). The effect of demonstrator age and number on duration of socially-induced food preferences in house mouse. *Behav Processes*; 41:69-77.
 - 27) Christakis, N.; Fowler, J. (2008). The collective dynamics of smoking in a large social network. *N Engl J Med*; 358: 2249–2258.
 - 28) Christakis, N.; Fowler, J. (2013). Social contagion theory: Examining dynamic social networks and human behavior. *Stat Med*; 32:556-577.

- 29) Church, R. (1959). Emotional reactions of rats to the pain of others. *J Comp Physiol Psychol*; 52:132-134.
- 30) Covington, H.; Miczek, K. (2005). Intense cocaine self-administration after episodic social defeat stress, but not after aggressive behavior: dissociation from corticosterone activation. *Psychopharmacology (Berl)*; 183:331-340.
- 31) Crandall, J.; Sakai, Y.; Zhang, J.; Koul, O.; Mineur, Y.; Crusio, W.; McCaffery, P. (2004). 13-cis-retinoic acid suppresses hippocampal cell division and hippocampal-dependent learning in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 101:5111-5116.
- 32) Crowley, N.; Kash, T. (2015). Kappa opioid receptor signaling in the brain: Circuitry and implications for treatment. *Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry*; 62:51-60.
- 33) Cryan, J.; Mombereau, C. (2004). In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice. *Mol Psychiatry*; 9:326-357.
- 34) Cryan, J.; Mombereau, C.; Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev*; 29:571-625.
- 35) Czéh, B.; Fuchs, E.; Wiborg, O.; Simon, M. (2016). Animal models of major depression and their clinical implications. *Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry*; 64:293–310.
- 36) D'Aquila, P.; Brain, P.; Willner, P. (1994). Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiol Behav*; 56:861–867.
- 37) Damian, J.; Ungerfeld, R. (2011). The stress response of frequently electroejaculated rams to electroejaculation: hormonal, physiological, biochemical, haematological and behavioural parameters. *Reprod Domest Anim*; 46:646–650.
- 38) Davidoff, L. (1989). *Introducción a la psicología*, 3^o ed. México, Ed. McGraw-Hill, 840 p.
- 39) De Wall, F. (2007). *Primates y filósofos. La evolución de la moral del simio al hombre*. Barcelona, Ed. Paidós Ibérica, 256 p.
- 40) Deacon, R. (2013). Measuring motor coordination in mice. *J Vis Exp*; 75:2609.
- 41) Decety, J.; Chaminade, T. (2003). Neural correlates of feeling sympathy. *Neuropsychologia*, 41:127-138.
- 42) Deussing, J. (2006). Animal models of depression. *Drug Discov Today Dis Models*; 3:375-383.
- 43) Diehl, D.; Gershon, S. (1992). The role of dopamine in mood disorders. *Compr Psychiatry*; 33:115-120.
- 44) Doremus, T.; Spear, L. (2016) Reward-centricity and attenuated aversions: An adolescent phenotype emerging from studies in laboratory animals. *Neurosci Biobehav Rev*; 70:121-134.

- 45) Ducottet, C.; Belzung, C. (2005). Correlations between behaviours in the elevated plus-maze and sensitivity to unpredictable subchronic mild stress: evidence from inbred strains of mice. *Behav Brain Res*; 156:153-162.
- 46) Dunn, A.; Swiergiel, A.; de Beaurepaire, R. (2005). Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies?. *Neurosci Biobehav*; 29:891-909.
- 47) Edgar, J.; Nicol, C.; Clark, C.; Paul, E. (2012). Measuring empathic responses in animals. *Appl Anim Behavi Sci*; 138:182-193.
- 48) Epstein, S. (1984). Controversial Issues in Emotion Theory. *Pers Soc Psychol Rev*; 5:64-88.
- 49) Escorihuela, R.; Fernández-Teruel, A. (1998). Modelos animales en psicopatología y psicofarmacología: del análisis experimental de la conducta a la neurogenética. *Psicol Conductual*; 6:165-191.
- 50) Evans, D.; Charney, D.; Lewis, L.; Golden, R.; Gorman, J.; Krishnan, K.; Nemeroff, C.; Bremner, J.; Carney, R.; Coyne, J.; DeLong, M.; Frasurre-Smith, N.; Glassman, A.; Gold, P.; Grant, I.; Gwyther, L.; Ironson, G.; Johnson, R.; Kanner, A.; Katon, W.; Kaufmann, P.; Keefe, F.; Ketter, T.; Laughren, T.; Leserman, J.; Lyketsos, C.; McDonald, W.; McEwen, B.; Miller, A.; Musselman, D.; O'Connor, C.; Petitto, J.; Pollock, B.; Robinson, R.; Roose, S.; Rowland, J.; Sheline, Y.; Sheps, D.; Simon, G.; Spiegel, D.; Stunkard, A.; Sunderland, T.; Tibbits, P.; Valvo, W. (2005). Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. *Biol Psychiatry*; 58:175-189.
- 51) Felger, J.; Alagbe, O.; hu, F.; Mook, D.; Freeman, A.; Sanchez, M.; Kalin, N.; Ratti, E.; Nemeroff, C.; Miller, A. (2007). Effects of interferon-alpha on rhesus monkeys: a nonhuman primate model of cytokine-induced depression. *Biol Psychiatry*; 62:1324-1333.
- 52) Fernandez-Pinto, I.; Lopez-Perez, B.; Marquez, M. (2008). Empatía: medidas, teorías y aplicaciones en revisión. *An Psicol*; 24:284-298.
- 53) Gold, P.; Chrousos, G. (2002). Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry*; 7:254-275.
- 54) Gómez-Restrepo, C.; Bohórquez, A.; Pinto Masis, D.; Gil Laverde, J.; Rondón Sepúlveda, M.; Díaz Granados, N. (2004). Prevalencia de depresión y factores asociados con ella en la población colombiana. *Rev Panam Salud Pública*; 16:378-386.
- 55) Gonzalez de Rivera, J. (2005). Empatía y ecpatia. *Av Salud Ment Relac*; 4(2):1-8.
- 56) Gonzalez-Pirelli, F.; Ruíz, P. (2015). Cognición social. En: Vásquez, A. *Manual de Introducción a la Psicología Cognitiva*. Montevideo, Ed. Udelar; pp.253-276.
- 57) Goodwin, G. (2015). The overlap between anxiety, depression, and obsessive-compulsive disorder. *Dialogues Clin Neurosci*; 17:249-260.
- 58) Griebel, G.; Simiand, J.; Steinberg, R.; Jung, M.; Gully, D.; Roger, P.; Geslin, M.; Scatton, B.; Maffrand, J.; Soubrié, P. (2002). 4-(2-Chloro-4-methoxy-5-

- methylphenyl)-N-[(1S)-2-cyclopropyl-1-(3-fluoro-4-methylphenyl)ethyl]5-methyl-N-(2-propynyl)-1,3-thiazol-2-amine hydrochloride (SSR125543A), a potent and selective corticotrophin-releasing factor(1) receptor antagonist II. Characterization in rodent models of stress-related disorders. *J Pharmacol Exp Ther*; 30:333–345.
- 59) Haddjeri, N.; Blier, P.; de Montigny, C. (1998). Long-term antidepressant treatments result in a tonic activation of forebrain 5-HT_{1A} receptors. *J Neurosci*; 18:10150-10156.
 - 60) Haefel, G.; Hames, J. (2013). Cognitive vulnerability to depression can be contagious. *Clin Psychol Sci*; 2:75-85.
 - 61) Hatfield, E.; Cacioppo, J.; Rapson, R. (1993). Emotional contagion. *Curr Dir Psychol Sci*; 2:96-99.
 - 62) Helsen, M.; Vollebergh, W.; Meeus, W. (2000). Social Support from Parents and Friends and Emotional Problems in Adolescence. *J Youth Adolesc*; 29:319–335.
 - 63) Herzog, C.; Czéh, B.; Corbach, S.; Wuttke, W.; Schulte-Herbrüggen, O.; Hellweg, R.; Flügge, G.; Fuchs, E. (2009). Chronic social instability stress in female rats: a potential animal model for female depression. *Neuroscience*; 159:982-92.
 - 64) Heyes, C.; Jaldow, E.; Nokes, T.; Dawson, G. (1994). Imitation in rats (*Rattus norvegicus*): the role of demonstrator action. *Behav Processes*; 32:173-182.
 - 65) Heyes, M.; Galef, B. (1996). Social learning in animals: the roots of culture. San Diego, Ed. Academic Press, 411 p.
 - 66) Hill, A.; Rand, D.; Nowak, M.; Christakis, N. (2010). Emotions as infectious diseases in a large social network: The SISa model. *Proc Biol Sci*; 277: 3827–3835.
 - 67) Holsboer, F.; Ising, M. (2010). Stress hormone regulation: biological role and translation into therapy. *Annu Rev Psychol*; 61:81-109.
 - 68) Howes, M.; Hokanson, J.; Loewenstein, D. (1985). Induction of depressive affect after prolonged exposure to a mildly depressed individual. *J Pers Soc Psychol*; 49:1110-1113.
 - 69) Huber, A.; Barber, A.; Faragó, T.; Müller, C.; Huber, L. (2017). Investigating emotional contagion in dogs (*Canis familiaris*) to emotional sounds of humans and conspecifics. *Anim Cogn*; 20:703-715.
 - 70) Joiner, TE. (1994). Contagious depression: existence, specificity to depressed symptoms, and the role of reassurance seeking. *J Pers Soc Psychol*; 67:287-296.
 - 71) Karanikas, C.; Lu, Y.; Richardson, H. (2013). Adolescent drink-ing targets corticotropin- releasing factor peptide-labeled cells in the central amygdala of male and female rats. *Neuroscience*; 249:98–105.
 - 72) Kelly, J.; Iannone, N.; McCarty, M. (2016). Emotional contagion of anger is automatic: An evolutionary explanation. *Br J Psychol*; 55:182-191.
 - 73) Kendler, K.; Gardner, C.; Prescott, A. (2002). Toward a comprehensive developmental model for major depression in women. *Am J Psychiatry*; 159: 1133–1145.

- 74) Kessler, R.; Berglund, P.; Demler, O.; Jin, R.; Merikangas K.; Walters, E. (2005) Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorder in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*; 62:593-602.
- 75) Kirkegaard, C.; Faber, J. (1998). The role of thyroid hormones in depression. *Eur J Endocrinol*; 138:1-9.
- 76) Kohn, R.; Saxena, S.; Levav, I.; Saraceno, B. (2004). The treatment gap in mental health care. *Bull World Health Organ*; 82:858-866.
- 77) Kompagne, H.; Bárdos, G.; Szénási, G.; Gacsalyi, I.; Harsing, L.; Levay, G. (2008). Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res*; 193:311-314.
- 78) Kopp, C.; Vogel, E.; Rettori, M.; Delagrangé, P.; Misslin, R. (1999). The effects of melatonin on the behavioural disturbances induced by chronic mild stress in C3H/He mice. *Behav Pharmacol*; 10:73–83.
- 79) Krishnan, V.; Han, M.; Graham, D.; Berton, O.; Renthal, W.; Russo, S.; Laplant, Q.; Graham, A.; Lutter, M.; Lagace, D.; Ghose, S.; Reister, R.; Tannous, P.; Green, T.; Neve R.; Chakravarty, S.; Kumar, A.; Eisch, A.; Self, D.; Lee, F.; Tamminga, C.; Cooper, D.; Gershenfeld, H.; Nestler, E. (2007). Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell*; 131:391-404.
- 80) Krishnan, V.; Nestler, E. (2008). The molecular neurobiology of depression. *Nature*; 455:894-902.
- 81) Lamers, F.; van Oppen, P.; Comijs, H.; Smit, J.; Spinhoven, P.; van Balkom, A.; Nolen, W.; Zitman, F.; Beekman, A.; Penninx, B. (2011). Comorbidity patterns of anxiety and depressive disorders in a large cohort study: the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *J Clin Psychiatry*; 72:341-348.
- 82) Leite, M.; Perez-Acosta, A. (2001). Modelos animales en psicopatología: ¿una contribución o una ilusión? *Av Psicol Latinoam*; 19:37-50.
- 83) Lenze, E.; Mulsant, B.; Shear, M.; Alexopoulos, G.; Frank, E.; Reynolds C. (2001). Comorbidity of depression and anxiety disorders in later life. *Depress Anxiety*; 14:86-93.
- 84) Li, S.; Han, J.; Wang, D.; Feng, B.; Deng, Y.; Wang, X.; Yang, Q.; Zhao, M. (2016). Echinocystic acid reduces reserpine-induced pain/depression dyad in mice. *Metab Brain Dis*; 31:455-463.
- 85) Loftis, J.; Hauser, P. (2004). The phenomenology and treatment of interferon-induced depression. *J Affect Disord*; 82:175-190.
- 86) Lucki, I.; Dalvi, A.; Mayorga, A. (2001). Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. *Psychopharmacology (Berl)*; 155:315-322.
- 87) Luppino, F.; de Wit, L.; Bouvy, P.; Stijnen, T.; Cuijpers, P.; Penninx, B.; Zitman, F. (2010) Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch Gen Psychiatry*; 67:220-229.

- 88) Machado-Vieira, R.; Kapczinski, F.; Soares, J. (2004). Perspectives for the development of animal models of bipolar disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 28:209-224.
- 89) Malatynska, E.; Knapp, R. (2005). Dominant-submissive behavior as models of mania and depression. *Neurosci Biobehav*; 29:715-737.
- 90) Maslova, L.; Bulygina, V.; Markel, A. (2002). Chronic stress during prepubertal development: immediate and long-lasting effects on arterial blood pressure and anxiety-related behavior. *Psychoneuroendocrinology*; 27:549–561.
- 91) McEwen, B. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*; 87:873-904.
- 92) Miller, A.; Maletic, V.; Raison, C. (2009). Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*; 65:732-741.
- 93) Minor, T.; Hanff, T. (2015). Adenosine signaling in reserpine-induced depression in rats. *Behav Brain Res*; 286:184-191.
- 94) Mohamed, H.S. (2016). Transcranial low-level infrared laser irradiation ameliorates depression induced by reserpine in rats. *Lasers Med Sci*; 31:1651-1656.
- 95) Moreau, J. (2002). Simulating the anhedonia symptom of depression in animals. *Dialogues Clin Neurosci*; 4:351–360.
- 96) Moussavi, S.; Chatterji, S.; Verdes, E.; Tandon, A.; Patel, V.; Ustun, B. (2007). Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. *Lancet*; 370:851-858.
- 97) Mufson, E.; Mesulam, M.; Pandya, D. (1981). Insular interconnections with the amygdala in the rhesus monkey. *Neuroscience*; 6:1231–1248.
- 98) Nakahashi, W.; Ohtsuki, H. (2017). Evolution of emotional contagion in group-living animals. *J Theor Biol*; 440:12-20.
- 99) Nesse, R. (2000). Is depression an adaptation?. *Arch Gen Psychiatry*; 57:14-20.
- 100) Nestler, E.; Gould, E.; Manij, H.; Buncan, M.; Duman, R.; Greshenfeld, H.; Hen, R.; Koester, S.; Lederhendler, I.; Meaney, M.; Robbins, T.; Winsky, L.; Zalcman, S. (2002) Preclinical models: status of basic research in depression. *Biol Psychiatry*; 52:503-528.
- 101) Nestler, E.; Hyman, S. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*; 13:1161-1169.
- 102) Nummenmaa, L.; Hirvonen, J.; Parkkola, R.; Hietanen, J. (2008). Is emotional contagion special? An fMRI study on neural systems for affective and cognitive empathy. *Neuroimage*; 43:571–580.
- 103) O'Reilly, K.; Schumake, J.; Gonzalez-Lima, F.; Lane, M.; Bailey, S. (2006) Chronic administration of 13-cis-retinoic acid increases depression-related behavior in mice. *Neuropsychopharmacology*; 31:1919-1927.
- 104) Ocampo, B.; Kritikos, A. (2011). Interpreting actions: The goal behind mirror

neuron function. *Brain Res Rev*; 67: 260–267.

- 105) Organización Mundial de la Salud. (2000). *Guía de Bolsillo de la Clasificación CIE-10*. Madrid, Médica Panamericana, 315 p.
- 106) Overmier, J. (2007). La investigación básica con animales fortalece la ciencia y la práctica de la psicología. *Interdisciplinaria*; 24:211-228.
- 107) Ozerov, A.; Bagmetova, V.; Chernysheva, V.; Tyurenkov, I. (2016). Comparison of the Efficiency of Adeprophen and Antidepressants of Various Groups on the Model of Reserpine-Induced Depression in Rats. *Bull Exp Biol Med*; 160:649-652.
- 108) Panksepp, J.; Lahvis, GP. (2011). Rodent empathy and affective neuroscience. *Neurosci Biobehav Rev*; 35:1864–1875.
- 109) Papadopoulou-Daïfoti, Z.; Sakellariou, A.; Raftopoulos, C.; Vamvakidès, A. (1992). Study of the turnover or the release of brain dopamine in rats after administration of N-linoleyl dopamine. *Ann Pharm Fr*; 50:229-236.
- 110) Pittenger, C.; Duman, R. (2008). Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*; 33:88-109.
- 111) Platania, J.; Moran, G. (2001). Social facilitation as a function of the mere presence of others. *J Sol Psychol*; 14:190-197.
- 112) Porsolt, R.; Le Pichon, M.; Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*; 266:730-2.
- 113) Radanović-Grgurić, L.; Filaković, P.; Barkić, J.; Mandić, N.; Karner, I.; Smoje, J. (2003). Depresión en pacientes con alteraciones del tiroides. *Eur Psychiatry*; 17:123-134.
- 114) Rosenquist, J.; Fowler, J.; Christakis, N. (2011). Social network determinants of depression. *Mol Psychiatry*; 16: 273–281.
- 115) Rosso, G.; Cal, K.; Damián, J.; Ruiz, P.; Elizondo, V.; Rodriguez, H.; Ferreira, A.; Sotelo, J; Vazquez, C.; Kun, A. (2010). Early phenotypical diagnoses in Trembler-J mice model. *J Neurosci Methods*; 190:14-19.
- 116) Ruíz, P. (2015). ¿Qué sabemos sobre el Contagio Emocional?, *Cuad Neuropsicol*; 9(3):15-24.
- 117) Ruíz, P.; Calliari A., Pautassi R. (2017). Consumo de alcohol en ratas adolescentes tratadas con reserpina y fluoxetina. *Suma Psicol*; 24:67-77.
- 118) Ruíz, P.; Pautassi, R. (2014a). ¿Existe contagio emocional entre ratas adolescentes? Congreso uruguayo de zoología “Prof. Dr. Raúl Vaz-Ferreira”. Tercero. Montevideo, Uruguay. pp.266.
- 119) Ruíz, P.; Pautassi, R. (2014b). Ansiedad, consumo de alcohol y su tratamiento farmacológico en un modelo animal de depresión. Congreso uruguayo de zoología “Prof. Dr. Raúl Vaz-Ferreira”. Tercero. Montevideo, Uruguay. pp.126.
- 120) Ruíz, P.; Pautassi, R. (2014c). Efectos motores, motivacionales y consumo de alcohol en un modelo farmacológico de depresión. Congreso uruguayo de

zoología "Prof. Dr. Raúl Vaz-Ferreira". Tercero. Montevideo, Uruguay. pp.266.

- 121) Salgado-Pineda, P.; Delaveau, P.; Olivier, B.; Nieoullon, A. (2005). Dopaminergic contribution to the regulation of emotional perception. *Clin Neuropharmacol*; 28:228-237.
- 122) Samberg, H. (2016). Contagious Depression: A Social Transmission Hypothesis. Tesis doctoral, Lake Forest College. Illinois, 33 p.
- 123) Sanislow, C.; Perkins, D.; Balogh, D. (1989). Mood induction, interpersonal perceptions, and rejection in the roomates of depressed, nondepressed-disturbed, and normal college students. *J Soc Clin Psychol*; 8:345-358.
- 124) Seibenhener, M.; Wooten, M. (2015). Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety like behavior in mice. *J Vis Exp*; 96:52434.
- 125) Seligman, M.; Resellini, R.; Kozak, K. (1975). Learnes helplessness in the rat: time course, immunization, and reversibility. *J Comp Physiol Psychol*; 88:542-547.
- 126) Siegel, G.; Agranoff, B.; Albers, R.; Fisher, S.; Uhler, M. (1999). *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6° ed. Philadelphia, Lippincott-Raven. 1200 p.
- 127) Simmons, W.; Avery, A.; Barcalow, J.; Bodurka, J.; Drevets, W.; Bellgowan, P. (2012). Keeping the body in mind: Insula functional organization and functional connectivity integrate interoceptive, exteroceptive, and emotional awareness. *Hum Brain Mapp*; 34:2944-2958.
- 128) Sloman, L. (2008). A new comprehensive evolutionary model of depression and anxiety. *J Affect Disord*; 106:219-228.
- 129) Socała, K.; Nieoczym, D.; Pieróg, M.; Szuster-Ciesielska, A.; Wyska, E.; Właż, P. (2016). Antidepressant like activity of sildenafil following acute and subchronic treatment in the forced swim test: effects of restraint stress and monoamine depletion. *Metab Brain Dis*; 31:1095-1104.
- 130) Spear, L. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev*; 24:417-463.
- 131) Steimer, T. (2011). Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues Clin Neurosci*; 13:495-506.
- 132) Sturm, V.; Yokoyama, Y.; Seeley, W.; Kramer, J.; Miller, B.; Rankin, K. (2013). Heightened emotional contagion in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease is associated with temporal lobe degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 110:9944-9949.
- 133) Sutin, A.; Zonderman, A. (2012) Depressive symptoms are associated with weight gain among women. *Psychol Med*; 42:2351-2360.
- 134) Tatem, K.; Quinn, L.; Phadke, A.; Yu, Q.; Gordish-Dressman, H.; Nagaraju, K. (2014). Behavioral and Locomotor Measurements Using an Open Field Activity Monitoring System for Skeletal Muscle Diseases. *J Vis Exp*; 91:51785.
- 135) Thayer, R. (1989). *The Biopsychology of Mood and Arousal*. Nueva York, Ed. Oxford University Press, 256 p.

- 136) Van Zalk, M.; Kerr, M.; Branje, S. (2010) Peer contagion and adolescent depression: The role of failure anticipation. *J Clin Child Adolesc Psychol*; 39: 837–848.
- 137) Varlinskaya, E.; Spear, L. (2008). Social interactions in adolescent and adult Sprague–Dawley rats: Impact of social deprivation and test context familiarity. *Behav Brain Res*; 188:398–405.
- 138) Walf, A.; Frye, C. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Proc*; 2:322–328.
- 139) Watson, P.; Andrews, P. (2002). Toward a revised evolutionary adaptationist analysis of depression: the social navigation hypothesis. *J Affect Disord*; 72:1-14.
- 140) Wilmouth C.; Spear, L. (2009). Hedonic sensitivity in adolescent and adult rats: Taste reactivity and voluntary sucrose consumption. *Pharmacol Biochem Behav*; 92:566–573.
- 141) Winer, B. (1991). *Statistical principles in experimental design*. 3^o ed. Nueva York, McGraw–Hill 928 p.
- 142) Wu, Z.; Fang, Y. (2014). Comorbidity of depressive and anxiety disorders: challenges in diagnosis assessment. *Shanghai Arch Psychiatry*; 26:227-231.
- 143) Zentall, T.; y Levine, J. (1972). Observational learning and social facilitation in the rat. *Science*; 178:1220-1221.

ANEXO

Tabla 1: Variables comportamentales medidas en el laberinto elevado en cruz

	Reserpina	Social	Control
Latencia para ingresar a los brazos cerrados (en segundos)	30.2 ± 6.6	12.0 ± 6.6	8.4 ± 7.7
Tiempo en brazos cerrados (en segundos)	204.5 ± 11.6	210.3 ± 11.6	251.9 ± 13.5
Tiempo en brazos abiertos (en segundos)	55.2 ± 10.3	53.8 ± 10.3	27.6 ± 11.8
Tiempo en extremo de brazos abiertos (en segundos)	2.5 ± 1.8	7.1 ± 1.8	3.6 ± 2.1
Tiempo en el centro (en segundos)	37.6 ± 6.5	34.5 ± 6.4	19.5 ± 7.6
Frecuencia de entrada en brazos cerrados	2.4 ± 0.5	6.2 ± 0.5	4.2 ± 0.5
Frecuencia de entrada en brazos abiertos	3.0 ± 0.5	6.7 ± 0.5	3.7 ± 0.6
Frecuencia de entradas en brazos cerrados + abiertos	5.4 ± 0.9	12.9 ± 0.9	7.9 ± 1.1

Medidas y errores para las variables estudiadas en animales tratados con reserpina, los que convivieron con ellos (sociales) y los controles.

Tabla 1: Variables comportamentales medidas en el laberinto elevado en cruz en ratas adolescentes. Los valores expresan las medias ± error estándar del promedio de las tres sesiones aplicadas los días 20, 40 y 60.

Tabla 2: Variables neuroendocrinas

	Reserpina	Social	Control
T4 (µg/dl)	1.55 ± 0.06	1.42 ± 0.04	1.51 ± 0.09
Dopamina (µg/gr)	278.02 ± 63.9	446.56 ± 74.02	685.8 ± 112.9
DOPAC (µg/gr)	997.1 ± 218.04	1126.1 ± 105.6	1988.3 ± 190.5

Reserpina: Tratados con la droga / Sociales: convivieron con los tratados / Controles /
T4: tiroxina / Dopamina / DOPAC: precursor de dopamina

Tabla 2: Variables neuroendócrinas medidas. El grupo tratado con reserpina mostró significativamente menos dopamina y DOPAC que el grupo control. A su vez, de los animales que convivieron con los tratados con reserpina (del grupo social) se obtuvieron menores niveles dopamina y DOPAC relativo a los controles que fueron inyectados solo con vehículo. No se encontraron diferencias significativas entre grupos en los valores de T4. Los valores expresan las medias±error estándar.