

# El enfoque de las diferencias individuales en el estudio de factores neurobiológicos relacionados con el desarrollo de la depresión y la ansiedad.

## The individual differences approach in the study of neurobiological factors related to the development of depression and anxiety.

Sequeira Cordero, Andrey<sup>1,2</sup>, Cuenca Berger, Patricia<sup>1,2,3</sup>, Fornaguera Trías, Jaime<sup>1,2,3</sup>

### Resumen

La investigación de las diferencias individuales en la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado en ratas, facilita la identificación de sustratos biológicos y mecanismos relacionados con la depresión. En una serie de estudios usando este enfoque encontramos que animales con baja inmovilidad presentaron mayores niveles de CRFR1 en el NAc en comparación con animales con alta inmovilidad. Además, la tasa de recambio de DA en NAc también fue mayor en animales juveniles con baja inmovilidad, aunque esta diferencia fue opuesta en animales adultos. Con respecto a la cinética neuroquímica observamos que animales con baja inmovilidad presentaron una disminución de BDNF en corteza prefrontal más rápida, comparados con ratas con alta inmovilidad. También se observó una respuesta diferencial al efecto del enriquecimiento ambiental en lo referente a la expresión de CRF y CRFR1 en el NAc. Finalmente, el enfoque de las diferencias individuales aplicado al estudio del cuidado materno, nos permitió identificar varios factores que pueden ser modificados por el ambiente temprano, entre los cuales destaca la expresión del receptor TrkB. Estas observaciones podrían representar un conjunto de factores de susceptibilidad o resistencia, por lo que se perfilan como blancos importantes en el estudio de la depresión.

### Summary

The study of individual differences in the immobility behavior using the forced swimming test in rats facilitates the identification of biological substrates and mechanisms related to depression. By means of the individual differences approach we found that animals with low immobility showed higher CRFR1 levels in the NAc compared with animals with high immobility. Furthermore, accumbal DA turnover was also significantly higher in juvenile animals with low immobility. In adult rats, a significant difference was also observed for accumbal DA turnover, but in an opposite direction. In regard to neurochemical kinetics, we found that animals with low immobility showed a faster decrease of the BDNF expression in the prefrontal cortex, compared with rats with high immobility. On the other hand, a differential response in the accumbal CRF or CRFR1 expression profiles in response to environmental enrichment was observed. Finally, the individual differences approach used in the study of maternal care allowed us to identify a number of factors susceptible of modification by early environments, e.g., the expression of TrkB receptor. Taken together, these findings may represent a set of features conferring susceptibility or resilience to the display of depression-related behaviors, emerging as key targets in the study of the disease.

1, Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica.

2, Centro de Investigación en Neurociencias (CIN), Universidad de Costa Rica.

3, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica.

Andrey Sequeira Cordero, Universidad de Costa Rica. Tel. 2511-3482, e-mail: bioaseq@gmail.com

**Palabras Clave:**

Diferencias individuales, conducta, neuroquímica, ambiente, depresión.

**Keywords:**

Individual differences, behavior, neurochemistry, environment, depression.

**Introducción:**

La investigación conductual en modelos animales basada en diferencias individuales se ha convertido en una herramienta importante para estudiar el funcionamiento cerebral y el desarrollo de enfermedades.<sup>1,2</sup> Aunque existen varios enfoques para estudiar las diferencias individuales, uno de los más utilizados involucra la exposición de una cohorte de animales a una prueba conductual particular, y la posterior clasificación de los individuos de acuerdo con el tiempo o la frecuencia en que manifiestan alguna conducta específica en animales altos, medios y bajos, o simplemente altos y bajos, dependiendo de los intereses de la investigación. Subsecuentemente, estos grupos son comparados según una serie de mediciones neuroconductuales.<sup>3,4</sup> Lo anterior adquiere relevancia cuando la conducta escogida se asocia con factores y mecanismos relacionados con una patología o una condición importante para la salud humana. Hasta la fecha, el estudio de las diferencias individuales en la conducta de animales de laboratorio se ha utilizado, entre otras, para investigar la ansiedad y la depresión.<sup>4</sup>

La prueba de nado forzado (PNF) es un modelo que se utiliza para el estudio de la desesperanza conductual (representada por la conducta de inmovilidad) y de sustancias con actividad antidepresiva.<sup>5</sup> Consiste en introducir los animales (principalmente roedores) en un recipiente con una cantidad de agua tal que se les hace imposible tocar el fondo con las patas o la cola y que además, por la altura de las paredes del recipiente, no permite la escapatoria.

En una primera sesión conocida como

preprueba, los animales luchan por escapar por lo que despliegan conductas activas, como por ejemplo el nado, la tentativa de escalamiento por las paredes y el buceo. Sin embargo, dada la imposibilidad de escape, paulatinamente van adquiriendo la conducta de inmovilidad en la que los únicos movimientos realizados son aquellos necesarios para mantenerse a flote.

En la sesión de prueba, que se realiza 24 horas después de la primera experiencia de nado forzado, esta inmovilidad (llamada entonces desesperanza aprendida) se manifiesta de manera exacerbada en relación con la preprueba y, según abundante evidencia farmacológica, está controlada por mecanismos relacionados con el desarrollo de conductas depresivas.<sup>6</sup> El estudio de las diferencias individuales en la PNF permite obtener información importante en lo referente a la identificación de factores neurobiológicos asociadas con dichas conductas depresivas. De hecho, varios reportes sugieren que el estudio de diferencias individuales por medio de la PNF permite identificar blancos moleculares que actúan como factores de susceptibilidad en el desarrollo de este padecimiento.<sup>7, 8, 9, 10</sup>

El abordaje de las diferencias individuales también ha sido utilizado para el estudio del efecto del cuidado materno en el desarrollo neuroconductual de la progenie.<sup>11, 12</sup> En esta variante del enfoque, se estudia el cuidado llevado a cabo por las madres mediante la evaluación de la conducta de lamido de las crías por parte de la madre, lo que refleja la inversión materna.

Las madres y las crías son clasificadas

según el lamido dado/recibido en animales con bajo, medio y alto cuidado. Así, en etapas posteriores del desarrollo, los hijos de madres bajas y altas son comparados de forma que se puedan identificar conductas y/o sustratos que se podrían haberse visto modulados por la conducta materna.<sup>13</sup>

Como se desprende de lo anterior, en este caso las diferencias individuales observadas en las madres permiten dosificar un factor ambiental al cual están expuestos los hijos (i.e., el bajo o alto cuidado materno recibido) y representan un modelo interesante para el estudio del efecto en el cerebro de estímulos tempranos adversos o favorables.

Aunque en general no existen circuitos neurológicos únicos relacionados con el desarrollo de psicopatologías como la depresión o el síndrome de ansiedad, se han identificado regiones cerebrales importantes que podrían estar relacionadas con la aparición de estas enfermedades. Así por ejemplo, se pueden señalar la corteza prefrontal (CPF), el hipocampo (HPC) y el núcleo accumbens (NAc), también conocido como estriado ventral.<sup>14</sup>

Al mismo tiempo, abundante evidencia experimental y clínica señala una serie de factores externos y/o internos al organismo que también están involucrados.<sup>15</sup> La exposición a agentes estresantes representa el principal factor exógeno, mientras que la acción de elementos como el factor liberador de corticotropina (CRF) a través de su receptor 1 (CRFR1), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) a través de su receptor tirosín quinasa relacionado con tropomiosina (TrkB) y la transmisión monoaminérgica, entre otros, pueden considerarse entre los factores endógenos más importantes.<sup>14</sup>

De acuerdo con el panorama anterior, nuestro grupo de investigación utilizó el enfoque de las diferencias individuales para estudiar factores asociados con la respuesta

al estrés y el desarrollo de conductas relacionadas con la depresión, mediante el modelo de la PNF en ratas. Esto nos permitió identificar una serie de diferencias entre los grupos con alta y baja inmovilidad en lo referente a varios de los factores estudiados. Estas diferencias podrían señalar distintos elementos de resistencia o de susceptibilidad para el desarrollo de conductas relacionadas con la depresión y/o con la ansiedad. Adicionalmente, estudiamos las diferencias individuales en el cuidado materno con el fin de identificar factores neuroconductuales que podrían haber sido modulados por este componente del ambiente temprano.

## **Animales con alta y baja inmovilidad: lo que los hace diferentes**

Antes de la PNF, los animales fueron sometidos a la prueba de campo abierto (PCA). La PCA consiste en introducir a un animal a una caja cerrada dándole libertad para que explore. Esta prueba permite estudiar parcialmente el estado emocional de los animales a través de la observación de conductas locomotoras y exploratorias, como por ejemplo el tiempo invertido en el área central de la caja.<sup>16</sup>

El hecho de que animales con alta y baja inmovilidad también difieran en cuanto a conductas relacionadas con la ansiedad sugiere una base fisiológica compartida, lo que facilita la identificación de factores de riesgo o de protección comunes a ambas patologías.

En humanos la depresión y el síndrome de ansiedad presentan una alta comorbilidad<sup>17</sup>, lo cual justifica este tipo de comparaciones. No encontramos ninguna diferencia en cuanto a conductas observadas en la PCA en animales con alta y baja inmovilidad, y este resultado se repitió a lo largo de varios experimentos.<sup>18</sup>

<sup>19</sup> Sin embargo, mediante una variación

experimental en la que la PCA se realizó después de la PNF, se observó que ratas con baja inmovilidad presentaron mayores conductas locomotoras y exploratorias.<sup>20</sup> Esto sugiere que la PNF tuvo un efecto potenciador de las diferencias, lo que facilitó la identificación de las mismas. Esta capacidad potenciadora está posiblemente asociada con un efecto ansiogénico de la PNF previamente identificado por Andreatini y Bacellar<sup>21</sup>, el cual podría haber inducido, al menos de manera transitoria, un estado emocional en el que la relación entre conductas depresivas y ansiosas se hizo evidente.

Con respecto a las mediciones neuroquímicas, se encontraron diferencias al comparar ambos grupos. Animales con baja inmovilidad presentaron en el NAc niveles de ARNm para el CRFR1 significativamente mayores en comparación con ratas con alta inmovilidad.<sup>18</sup> Según estos resultados una expresión incrementada del CRFR1 en el NAc podría funcionar como un factor de protección ante el desarrollo de conductas depresivas, mientras que una reducción actuaría como factor de riesgo.

El CRFR1 es un receptor acoplado a proteínas G, cuya activación por parte del CRF activa diferentes vías de señalización que regulan gran cantidad de procesos celulares.<sup>22</sup> Específicamente, la activación de las vías de señalización controladas por CRFR1 en el NAc parece estar relacionada con conductas de búsqueda de recompensa.<sup>23</sup> En ese sentido, nuestros resultados sugieren que mayores niveles del CRFR1 en el NAc se asocian con un estado de mayor motivación para buscar una recompensa (la que en este caso estaría representada por el escape del recipiente con agua), lo cual se traduce en un mayor despliegue de conductas activas como el nado y el intento de escalamiento y una menor inmovilidad.

Por el contrario, menores niveles del

receptor se asocian con una motivación para buscar el escape disminuida y, por lo tanto, con una mayor inmovilidad.

Es importante mencionar que algunos experimentos se llevaron a cabo tanto en animales adolescentes como en adultos jóvenes, con el fin de establecer si la edad juega un efecto modulador sobre las diversas variables estudiadas. Así por ejemplo, las diferencias en cuanto a la expresión de CRFR1 en el NAc mencionadas anteriormente no variaron con la edad, lo cual descarta el efecto modulador planteado, al menos entre las edades estudiadas.

Sin embargo, también identificamos diferencias en lo referente a la tasa de recambio de dopamina (DA) en esa misma región y, en este caso, esas diferencias sí fueron dependientes de la edad. En adolescentes, ratas con baja inmovilidad presentaron una tasa de recambio de DA significativamente mayor al compararlas con ratas con alta inmovilidad, mientras que adultos jóvenes con baja inmovilidad presentaron una tasa de recambio de DA significativamente menor que animales con alta inmovilidad de la misma edad.<sup>18</sup> Además, la tasa de recambio de DA en el NAc presentó una correlación positiva con los niveles de CRFR1.

Estos resultados nos llevaron a plantear la hipótesis de que la neurotransmisión dopaminérgica, originada en el área tegmental ventral, participa en la regulación de la expresión de CRFR1 en el NAc y este efecto regulador depende de la edad. Lo anterior significa que en distintas etapas de vida niveles de neurotransmisión dopaminérgica diferentes, incluso opuestos, pueden llevar a un mismo resultado neurofisiológico, i.e., la regulación de la expresión de CRFR1. Los sistemas monoaminérgicos juegan un papel importante para las funciones del cerebro al modular el procesamiento de información específica, mediada por los

principales neurotransmisores inhibitorios y excitatorios (i.e., GABA y el glutamato, respectivamente).<sup>24</sup> Adicionalmente, varias líneas de evidencia corroboran que la respuesta monoaminérgica al estrés puede variar con respecto a la edad<sup>25, 26</sup>, lo cual concuerda con nuestras observaciones y apoya la hipótesis propuesta.

Aunque no hubo diferencias entre animales con baja y alta inmovilidad con respecto a los otros factores neuroquímicos estudiados, se hallaron marcadas diferencias entre los grupos etarios en lo referente a las monoaminas estudiadas, tanto para la DA como para la serotonina (5-HT) y la norepinefrina (NE).<sup>18</sup>

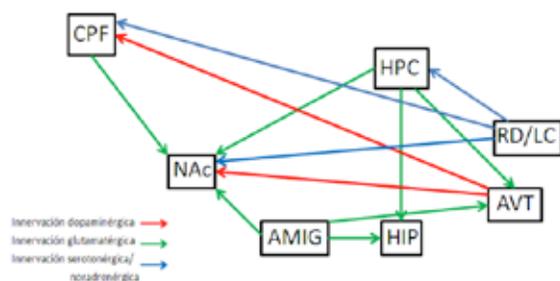


Figura 1. Concentración de norepinefrina (NE), dopamina (DA) y serotonina (5-HT) en el NAc de animales adolescentes (1 mes de edad) y adultos jóvenes (3 meses de edad). \*  $p < 0.05$ .

La figura 1 ejemplifica lo anterior al mostrar las diferencias en el contenido monoaminérgico entre animales adolescentes y adultos jóvenes en el NAc (aunque no se muestran los datos para el HPC, estos también presentaron grandes diferencias en relación con la edad). Estos resultados son relevantes pues ponen de manifiesto los profundos cambios que pueden ocurrir en el cerebro a lo largo del desarrollo, al menos en lo que respecta a las etapas incluidas en nuestros estudios. Asimismo, además de las diferencias neuroquímicas se observaron marcadas diferencias en prácticamente todas las variables conductuales estudiadas tanto en la PNF como en la PCA.

Interesantemente, animales adolescentes presentaron tiempos de inmovilidad mucho

mayores que adultos jóvenes, lo cual sugiere una mayor susceptibilidad a manifestar conductas depresivas en respuesta a eventos estresantes. Esta mayor susceptibilidad en adolescentes también se ha propuesto para los humanos, y podría explicarse por el hecho de que el cerebro adolescente aún no ha madurado completamente.<sup>27</sup> Esta inmadurez podría explicar esa susceptibilidad incrementada. Además, los cambios relacionados con el proceso de maduración hasta alcanzar el estado adulto podrían explicar, al menos en parte, las diferencias neuroquímicas observadas entre ratas adolescentes y adultos jóvenes.

El estrés desencadena procesos celulares que van desde respuestas inmediatas hasta aquellas que se producen tardíamente y que regulan los efectos a largo plazo de la exposición.<sup>28</sup> Desde este punto de vista, la caracterización de las respuestas neuroquímicas relacionadas con las diferencias individuales en la PNF también debe tomar en cuenta el factor tiempo, pues es probable que aún después de la adquisición de la desesperanza existan diferencias en la cinética de distintas moléculas. Estas diferencias cinéticas reflejarían diferencias en procesos que operan a mediano y/o a largo plazo.

Para abordar esta hipótesis, se realizaron estudios neuroquímicos una hora, seis horas y veinticuatro horas después de la exposición a la PNF. Nuestros resultados indican una dinámica diferencial de BDNF tanto en la CPF como en el NAc.

La PNF induce una disminución significativa en los niveles de BDNF en la CPF y la velocidad de esa reducción difiere entre bajos y altos: al comparar con las mediciones hechas en animales no sometidos al nado forzado observamos que los niveles de ARNm de BDNF fueron significativamente menores en individuos con baja inmovilidad una hora después de la PNF, lo que no ocurrió

en individuos con alta inmovilidad. Seis horas después de la prueba, la disminución fue significativa tanto para ratas con bajo como con alta inmovilidad en relación con el grupo control.<sup>19</sup>

Por su parte, en el NAc la concentración de ARNm del BDNF muestra una disminución significativa seis horas después de la PNF, pero solamente en ratas con baja inmovilidad. Aunque en animales con alta inmovilidad se presenta una tendencia a disminuir, dicha disminución no es significativa.<sup>19</sup> Lo anterior corrobora que a la hora de caracterizar las diferencias entre individuos que presentan resistencia o vulnerabilidad a desarrollar una conducta depresiva, no solo deben tomarse en cuenta las concentraciones de diferentes moléculas sino, además, el comportamiento de esas moléculas a lo largo de un periodo de tiempo definido. Estas diferencias cinéticas también podrían representar un factor de resistencia o, por contrario, de riesgo para la manifestación de tales conductas.

El BDNF es una neurotrofina que, a través de la unión con TrkB, activa vías de señalización que regulan distintos procesos como la sobrevivencia neuronal, la sinaptogénesis, el crecimiento de espinas dendríticas, entre otros aspectos de la plasticidad neuronal, lo cual tiene un gran impacto en el aprendizaje, la memoria, y los procesos de respuesta y de adaptación a eventos estresantes.<sup>29,30</sup> Además, varias líneas de evidencia indican que, en relación con la depresión (o con conductas animales relacionadas con la misma), los niveles de BDNF se ven reducidos en varias regiones como por ejemplo la CPF y el HPC.<sup>31,32</sup> Nuestros resultados para CPF concuerdan con esas observaciones e incluso las complementan: bajos niveles de desesperanza se asocian con una disminución más rápida en los niveles de ARNm de BDNF luego de la manifestación de la respuesta conductual. Esta mayor rapidez en la reducción de la

neurotrofina podría representar un factor de protección, en tanto que una disminución más lenta representaría un factor de riesgo para el desarrollo de conductas depresivas. La naturaleza del mecanismo asociado con estas observaciones deberá ser estudiada más profundamente para evaluar de una manera más directa el posible efecto de estas diferencias cinéticas en cuanto a la función cerebral.

Luego de la exposición a la PNF, los niveles de ARNm de CRF también presentaron una reducción significativa tanto en la CPF como en el NAc, aunque en este caso no se observaron diferencias entre animales con alta y baja inmovilidad en cuanto a comportamiento de la expresión en ninguno de los puntos de tiempo estudiados. Como se mencionó antes, las vías de señalización activadas por la unión del péptido CRF al receptor CRFR1 en el NAc participan en el control de la motivación para buscar recompensas.<sup>23,33,34</sup> Así, es posible proponer que la reducción en los niveles de CRF en el NAc luego de la exposición a dos sesiones del estrés por nado forzado, podría estar relacionado con una disminución la motivación para buscar una escapatoria lo cual se manifiesta como una adquisición gradual de la inmovilidad observada a lo largo de cada una de las sesiones.

De hecho, si este efecto de reducción se presentara también en la preprueba, eso podría explicar el incremento en la inmovilidad que generalmente se observa entre la preprueba y la prueba. Es claro que este argumento es todavía especulativo y debe ser abordado de manera sistemática para obtener conclusiones basadas en evidencia.

A pesar de ello, la participación del CRF en los procesos de motivación también se ve apoyada por investigaciones realizadas en el campo de la neurobiología de la adicción, en donde se han encontrado asociaciones entre

los niveles de CRF en amígdala y un aumento en motivación para buscar la droga.<sup>35</sup> En el mismo sentido, el uso de antagonistas para los receptores de CRF disminuye la motivación que se da normalmente para la búsqueda de la droga.<sup>36</sup> En conjunto, estos datos parecen apoyar el argumento aquí propuesto.

Nuestros resultados también señalan interacciones entre diferentes regiones cerebrales que juegan un papel relevante en la respuesta al estrés y el desarrollo de conductas relacionadas con la depresión (Fig. 2).

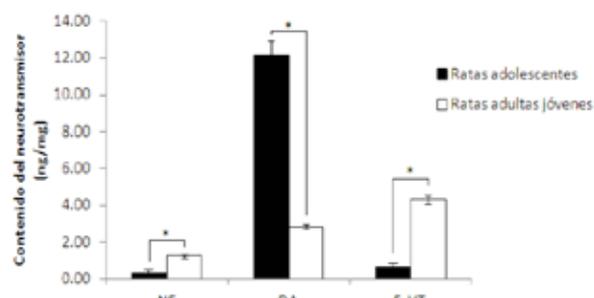


Figura 2. Representación esquemática resumida de los circuitos neuronales involucrados en la regulación de la respuesta al estrés y el desarrollo de la depresión. Se muestran solamente relaciones unilaterales y el esquema solo presenta algunas de las regiones involucradas, según su relevancia para la presente discusión. CPF, corteza prefrontal; NAc, núcleo accumbens; AMIG, amígdala; HPC, hipocampo; HIP, hipotálamo; RD, rafe dorsal; LC, locus coeruleus; AVT, área ventral tegmental.

Específicamente, es clara la interacción CPF-NAc según lo evidencian las correlaciones entre los niveles de expresión de BDNF o CRF entre ambas regiones cerebrales, lo cual sugiere que la expresión de cada gen en la CPF está relacionada con la expresión de ese mismo gen en el NAc.<sup>19</sup> Estas observaciones sugieren un circuito PFC-NAc operando de manera coordinada para modular respuestas relacionadas con la exposición al estrés y con el despliegue de la desesperanza. De hecho, el NAc es considerado un centro de integración que recibe información de estímulos contextuales procesados en el HPC y de funciones ejecutivas procesadas en la CPF para, finalmente, controlar las

conductas dirigidas a objetivos específicos<sup>37</sup> (Fig. 2). En concordancia con nuestros resultados, hallazgos previos indican que un alto porcentaje del BDNF en el estriado (que incluye al NAc) es originado en la CPF.<sup>38</sup> Queda por establecer, entonces, si este BDNF originado en la CPF incluye dentro de la lista de genes cuya expresión debe regular en el NAc al propio BDNF.

Los resultados del comportamiento cinético de los neurotransmisores incluidos en el estudio evidenciaron un fenómeno de gran importancia: el efecto a largo plazo (de hasta 24 horas) por parte de la PNF sobre varios sistemas de neurotransmisión.<sup>19</sup> En términos generales se asume que la exposición a un agente estresante induce cambios rápidos en los sistemas de neurotransmisión monoaminérgica (i.e., en el orden de los minutos), que rara vez se prolongan más allá de lo que dura la exposición al agente.<sup>28</sup> Se acepta, además, que estos cambios modulan una serie de vías de señalización que serían las responsables de ejercer los efectos a mediano y largo plazo de la exposición.<sup>28</sup> Nuestros resultados contrastan con esta premisa, pues varios de los diferentes neurotransmisores estudiados presentaron cambios significativos hasta un día después de la exposición a la PNF. Esto sugiere que los eventos que se dan como consecuencia de la exposición al estrés, involucran la acción de los sistemas monoaminérgicos, cuya participación se mantiene o incluso podría iniciar hasta veinticuatro horas después del nado forzado. De la misma manera, otros sistemas de neurotransmisión como el glutamatérgico y el GABAérgico también presentaron este fenómeno. Así, es evidente la necesidad de realizar nuevas investigaciones para determinar de manera precisa la dinámica de los diferentes neurotransmisores en lo referente a la regulación de la respuesta al estrés y el desarrollo de conductas

relacionadas con la depresión.

### El ambiente y sus efectos

Nuestros resultados con respecto al efecto neuroconductual del cuidado materno como componente del ambiente psicosocial temprano, demostraron que la inversión materna (reflejada en la conducta de lamido) es capaz de modular en la progenie los niveles de TrkB, la tasa de recambio de 5-HT en el NAc y la respuesta conductual en la PCA.

Crías adolescentes de madres con bajo cuidado presentaron niveles significativamente menores del ARNm de TrkB en el NAc, así como una menor tasa de recambio de 5-HT en esa misma región.<sup>39</sup> Además, estos animales con bajo cuidado presentaron niveles de locomoción significativamente mayores en la PCA, resultado que se interpretó como indicador de mayor ansiedad. Posteriormente, nuestro grupo corroboró esta interpretación mediante experimentos adicionales en los que la ansiedad fue evaluada en el laberinto elevado en cruz, una prueba que también mide los niveles de ansiedad de los animales.<sup>40</sup>

Vistos en conjunto, los resultados nos permitieron proponer una hipótesis en la que el cuidado materno es capaz de modular la transmisión serotoninérgica desde el núcleo rafe hasta el NAc (Fig. 2). Así, los animales que recibieron alto cuidado presentan una neurotransmisión de 5-HT aumentada, lo que a su vez incrementa la síntesis del receptor TrkB. Esto lleva a una acción neurotrófica incrementada en esta región del cerebro, lo que está relacionado con la manifestación de niveles de ansiedad más reducidos.<sup>39</sup>

Diversos estudios señalan que las diferencias en la expresión génica moduladas por el cuidado materno están relacionadas con la metilación del ADN y/o con modificaciones de histonas.<sup>11,41,42</sup>

Estos dos componentes de los mecanismos de control epigenético participan en el

establecimiento de estructuras de cromatina compactadas o descompactadas, lo que induce el silenciamiento o la activación de la expresión génica, respectivamente.<sup>13</sup> De acuerdo con esto, es posible que la expresión diferencial del TrkB sea mediada por la metilación o desmetilación de su promotor (o de otras secuencias reguladoras) y por modificaciones de las histonas que conforman los nucleosomas en esas mismas regiones.<sup>43</sup>

Además, el proceso que lleva a la metilación diferencial podría estar controlado por el sistema serotoninérgico. Dicha hipótesis se basa en observaciones referentes a la metilación del receptor de glucocorticoides, en donde se ha observado que el cuidado regula la neurotransmisión de 5-HT en el HPC, cuyas cascadas de señalización llevan al reclutamiento de metiltransferasas/desmetilasas que son capaces de modificar los patrones de metilación del ADN.<sup>13</sup> En ese sentido, nuestros datos muestran una correlación positiva entre la tasa de recambio de 5-HT y la expresión de TrkB, lo cual apoya el papel de la transmisión serotoninérgica en el proceso. Ciertamente, una asociación como esta no sugiere mecanismos, sin embargo, la correlación indica que dicha hipótesis podría reflejar una realidad biológica de asociación.

Según lo anterior, es evidente que se debe estudiar por lo menos la metilación en TrkB de forma que se pueda determinar si la regulación epigenética está jugando un papel como mecanismo modulador.

El efecto del ambiente también fue evaluado desde la perspectiva de las diferencias individuales en la PNF. Específicamente, animales con alta y baja inmovilidad fueron alojados en ambientes enriquecidos o ambientes estándar. El enriquecimiento ambiental consiste en alojar a los animales en cajas especiales que, gracias a su estructura, contenido de objetos, dimensiones y número de individuos alojados (Fig. 3A), permiten

la exposición a estímulos físicos y sociales a



Figura 3. Condiciones de alojamiento. A) Caja de enriquecimiento, en la que se observan algunos de los juguetes utilizados, las escaleras y los diferentes niveles. B) Condiciones estándar.

Este tipo de manipulación ambiental ha demostrado tener un importante efecto en el funcionamiento del cerebro.<sup>44</sup> Con respecto a nuestro estudio, la identificación de factores comunes, es decir, factores que además de estar asociados con una alta o baja inmovilidad sean modulados por el enriquecimiento ambiental, los señalaría como blancos moleculares relacionados con la depresión que, además, podrían ser modificados mediante “terapias ambientales”.

El enriquecimiento tuvo un efecto dependiente de las diferencias individuales, de tal modo que ratas con baja inmovilidad y sometidas a enriquecimiento presentaron niveles del ARNm de CRF en el NAc significativamente menores que las ratas con baja inmovilidad sometidas a condiciones

estándar.<sup>20</sup> Por otro lado, ratas con alta inmovilidad sometidas a enriquecimiento presentaron un incremento marginalmente significativo en los niveles del receptor CRFR1 en comparación con animales que presentaron alta inmovilidad y que se mantuvieron en condiciones estándar.<sup>20</sup>

Es importante mencionar, sin embargo, que esta interacción no fue identificada a nivel conductual ni para otros factores neuroquímicos, lo que complica la interpretación de las diferencias en cuanto a CRF y CRFR1, pues no es posible asociarlas con otras variables estudiadas. Por esto, y dado que no es posible extraer conclusiones más claras, se deben diseñar nuevos experimentos que permitan interpretar más claramente esta observación.

De cualquier forma, nuestros datos sugieren que el efecto del enriquecimiento estaría siendo modulado por la condición de baja o alta inmovilidad, lo cual, visto desde la perspectiva inversa, es decir, según la posibilidad de modificar con estímulos ambientales una conducta depresiva, genera una serie de preguntas con respecto al uso de los ambientes enriquecidos como “terapia ambiental” para modificar conductas relacionadas con psicopatologías como la depresión.

## Consideraciones finales

El uso de modelos animales se considera una herramienta fundamental para comprender procesos relacionados tanto con el funcionamiento cerebral normal, como con el desarrollo de psicopatologías. En ese sentido, el enfoque de las diferencias individuales aplicado a la conducta de inmovilidad en la PNF se presenta como un instrumento de gran utilidad para el estudio de factores que se asocian con la depresión pues, dada la interpretación de la inmovilidad como

indicador de desesperanza, estos factores pueden ser considerados factores de riesgo o de protección para el despliegue de conductas depresivas.

Bajos niveles en la expresión de CRFR1 en el NAc, una disminución más lenta en la expresión de BDNF en la CPF y una neurotransmisión diferencial de DA en el NAc dependiente de la edad, son factores relacionados con un incremento en el tiempo de inmovilidad en la PNF, es decir, están relacionados con la desesperanza. El que representen en realidad un conjunto de factores de susceptibilidad para el desarrollo de la depresión queda aún por determinarse, tanto a nivel preclínico, como también a nivel clínico. Como cabe esperar en cualquier actividad científica, estos estudios generaron una serie de preguntas e hipótesis relevantes que deben ser abordadas sistemáticamente, para así llegar a un conocimiento más profundo sobre los eventos cerebrales que controlan la respuesta al estrés y cuya desregulación juega un papel fundamental en el surgimiento de psicopatologías como la depresión y/o la ansiedad.

### Contribuciones

Los autores han colaborado de manera equitativa en la elaboración de este artículo

### Conflictos de interés

Nada por declarar.

### Referencias

- Görisch J, RKW Schwarting. Wistar rats with high versus low rearing activity differ in radial maze performance. *Neurobiol Learn Mem* 2006; 86(2):175-187.
- Mällo T, Alttoa A, Kõiv K et al. Rats with persistently low or high exploratory activity: behaviour in tests of anxiety and depression, and extracellular levels of dopamine. *Behav Brain Res* 2007; 177:269–281.
- Pawlak CR, Ho YJ, Schwarting RK. Animal models of human psychopathology based on individual differences in novelty-seeking and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 2008; 2(8):1544-1568.
- Harro J. Inter-individual differences in neurobiology as vulnerability factors for affective disorders: implications for psychopharmacology. *Pharmacol Ther* 2010; 125(3):402-422.
- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977; 266:730–732.
- Slattery DA, Cryan JF. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nat Protoc* 2012; 7(6):1009-1014.
- Taghzouti K, Lamarque S, Kharouby M et al. Interindividual differences in active and passive behaviors in the forced-swimming test: implications for animal models of psychopathology. *Biol Psychiatry* 1999; 45:750-758.
- Naudon L, Jay TM. Opposite behaviours in the forced swimming test are linked to differences in spatial working memory performances in the rat. *Neuroscience* 2005; 130(2):285-293.
- Enríquez-Castillo A, Alamilla J, Barral J et al. Differential effects of caffeine on the antidepressant-like effect of amitriptyline in female rat subpopulations with low and high immobility in the forced swimming test. *Physiol Behav* 2008; 94(3):501-509.
- Shishkina GT, Kalinina TS, Berezova IV et al. Resistance to the development of stress-induced behavioral despair in the forced swim test associated with elevated hippocampal Bcl-x1 expression. *Behav Brain Res* 2010; 213(2):218-224.
- Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 2004; 7(8):847-854.

12. Bagot RC, van Hasselt FN, Champagne DL et al. Maternal care determines rapid effects of stress mediators on synaptic plasticity in adult rat hippocampal dentate gyrus. *Neurobiol Learn Mem* 2009; 92(3):292-300.
13. Szyf M, Weaver I, Meaney M. Maternal care, the epigenome and phenotypic differences in behavior. *Reprod Toxicol* 2007; 24(1):9-19.
14. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008; 455:894-902.
15. Sequeira A, Fornaguera J. Neurobiología de la depresión. *Rev Mex Neuroci* 2009; 10(6):462-478.
16. Walsh RN, Cummins RA. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull* 1976; 83(3):482-504.
17. Hirschfeld RM. The Comorbidity of Major Depression and Anxiety Disorders: Recognition and Management in Primary Care. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry* 2001; 3(6): 244-254.
18. Sequeira-Cordero A, Mora-Gallegos A, Cuenca Berger P et al. Individual differences in the immobility behavior in juvenile and adult rats are associated with monoaminergic neurotransmission and with the expression of corticotropin-releasing factor receptor 1 in the nucleus accumbens. *Behav Brain Res* 2013; 252:77-87.
19. Sequeira-Cordero A, Mora-Gallegos A, Cuenca Berger P et al. Individual differences in the forced swimming test and neurochemical kinetics in the rat brain. *Physiol Behav* 2014; 128C:60-69.
20. Sequeira-Cordero A, Mora-Gallegos A, Cuenca Berger P et al. Individual differences in the forced swimming test and the effect of environmental enrichment: Searching for an interaction. *Neuroscience* 2014; 265C:95-107.
21. Andreatini R, Bacellar LF. The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. *Braz J Med Biol Res* 1999; 32(9):1121-1126.
22. Gallagher JP, Orozco-Cabal LF, Liu J et al. Synaptic physiology of central CRH system. *Eur J Pharmacol* 2008; 583(2-3):215-225.
23. Peciña S, Schulkin J, Berridge KC. Nucleus accumbens corticotropin-releasing factor increases cue-triggered motivation for sucrose reward: paradoxical positive incentive effects in stress? *BMC Biol* 2006; 4:8.
24. Brodal P. The central nervous system. 4th ed. New York, USA: Oxford University Press; 2009. p. 591.
25. Cizza G, Gold PW, Chrousos GP. Aging is associated in the 344/N Fischer rat with decreased stress responsivity of central and peripheral catecholaminergic systems and impairment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 771:491-511.
26. Kanitz E, Otten W, Hameister T et al. Age-related changes in corticosteroid receptor expression and monoamine neurotransmitter concentrations in various brain regions of postnatal pigs. *J Neurosci Res* 2011; 89(7):1134-1141.
27. Casey BJ, Jones RM, Hare TA. The adolescent brain. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1124:111-126.
28. Joëls M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10(6):459-466.
29. Duman RS, Voleti B. Signaling pathways underlying the pathophysiology and treatment of depression: novel mechanisms for rapid-acting agents. *Trends Neurosci* 2012; 35(1):47-56.
30. Bath KG, Schilit A, Lee FS. Stress effects on BDNF expression: effects of age, sex, and form of stress. *Neuroscience* 2013; 239:149-156.
31. Brown SM, Henning S, Wellman CL.

- Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 2005; 15:1714–1722.
32. Burton CL, Chatterjee D, Chatterjee-Chakraborty M et al. Prenatal restraint stress and motherless rearing disrupts expression of plasticity markers and stress-induced corticosterone release in adult female Sprague-Dawley rats. *Brain Res* 2007; 1158:28–38.
33. Chen YW, Rada PV, Bützler BP et al. Corticotropin-releasing factor in the nucleus accumbens shell induces swim depression, anxiety, and anhedonia along with changes in local dopamine/acetylcholine balance. *Neuroscience* 2012; 206:155-166.
34. Lemos JC, Wanat MJ, Smith JS et al. Severe stress switches CRF action in the nucleus accumbens from appetitive to aversive. *Nature* 2012; 490(7420):402-46.
35. Koob GF, Le Moal M. Neurobiological mechanisms for opponent motivational processes in addiction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008; 363(1507):3113-3123.
36. Specio SE, Wee S, O'Dell LE et al. CRF1 receptor antagonists attenuate escalated cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology* 2008; 196:473-482.
37. Grace AA. Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 31:330–341.
38. Altar CA, Cai N, Bliven T et al. Anterograde transport of brain-derived neurotrophic factor and its role in the brain. *Nature* 1997; 389(6653):856-860.
39. Sequeira-Cordero A, Masís-Calvo M, Mora-Gallegos A et al. 2013. Maternal behavior as an early modulator of neurobehavioral offspring responses by Sprague-Dawley rats. *Behav Brain Res* 2013; 237:63–70.
40. Masís-Calvo M, Sequeira-Cordero A, Mora-Gallegos et al. Behavioral and neurochemical characterization of maternal care effects on juvenile Sprague–Dawley rats. *Physiol Behav* 2013; 118: 212–217.
41. Zhang TY, Hellstrom IC, Bagot RC et al. Maternal care and DNA methylation of a glutamic acid decarboxylase 1 promoter in rat hippocampus. *J Neurosci* 2010; 30(39):13130-13137.
42. Bagot RC, Zhang TY, Wen X et al. Variations in postnatal maternal care and the epigenetic regulation of metabotropic glutamate receptor 1 expression and hippocampal function in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109 Suppl 2:17200-17207.
43. Bagot RC, Meaney MJ. Epigenetics and the biological basis of gene x environment interactions. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49(8):752-771.
44. Simpson J, Kelly JP. The impact of environmental enrichment in laboratory rats—behavioural and neurochemical aspects. *Behav Brain Res* 2011; 222(1):246-264.