

La respuesta locomotora al ambiente novedoso en el corredor circular predice cambios de los índices depresivos y antidepresivos durante la prueba de nado forzado en ratas Wistar hembras

Ana Gisela Flores-Serrano¹, Jaime Zaldívar-Rae², Humberto Salgado-Burgos¹, Juan Carlos Pineda-Cortés¹

¹ Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México.

² Escuela de Medicina, Universidad Anáhuac Mayab, Mérida, México

RESUMEN

Introducción. Los fármacos antidepresivos modulan diferencialmente las conductas usadas como índices depresivos en ratas con diferente respuesta locomotora al ambiente novedoso.

Objetivo. Evaluar el desempeño en la prueba de nado forzado (PNF) de ratas Wistar hembras, identificadas por su respuesta locomotora al ambiente novedoso en la prueba de corredor circular (CC).

Materiales y Métodos. Medimos el desempeño en la PNF de ratas clasificadas como "LR" o "HR" de acuerdo con la distribución de sus respuestas locomotoras en el CC.

Resultados. En promedio, las ratas realizaron 183 ± 9 cruzamientos en el CC. Las ratas LR registraron 125 ± 8 cruzamientos, mientras que las ratas HR realizaron 229 ± 10 cruzamientos. Cuando todas las ratas fueron evaluadas una semana después en la PNF, el tiempo de inmovilidad (TI) se incrementó ($p < 0.01$) y el tiempo de escalamiento (TE) decreció significativamente entre los dos días ($p < 0.01$), sin cambio en el tiempo de nado. Sin embargo, para las ratas LR únicamente se redujo el tiempo de nado (TN), mientras que para las ratas HR el TI se incrementó y el TE decreció. Finalmente, el número de cruzamientos realizado por las ratas LR, pero no por las HR, mostró

correlación con el TI y con el TE que produjeron en la PNF.

Conclusiones. Las ratas Wistar hembras expresan respuesta diferencial al ambiente novedoso que predice su desempeño en las dos sesiones de la PNF.

Palabras clave: actividad baja/alta, respuesta al ambiente novedoso, modelos animales, estilos de afrontamiento, impulsividad

ABSTRACT

The locomotor response during a forced swimming test in a novel circular corridor environment as a predictor for changes in antidepressant indices in female Wistar rats

Introduction. Antidepressant drugs differentially modulate behaviors used as depressive indices in rats with different locomotor responses when faced with a new stressful environment.

Objective. To evaluate in the forced swimming test (PNF), female Wistar rats selected according to the distance traveled in the circular corridor test (CC).

Materials and Methods. We compared the performance in the forced swimming test a group

Autor para correspondencia: Juan Carlos Pineda Cortés. Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México. **E-mail:** pcortes@uady.mx

Recibido: el 23 de septiembre de 2013. **Aceptado para publicación:** el 19 de febrero de 2014

Este documento está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb142512.pdf>

Flores-Serrano *et al.*

of rats detected in below the 34th percentile in the distribution of their locomotor responses, classified as "LR", with another group "HR", detected above the 66th percentile in the same distribution in the CC.

Results. On average, 40 rats made 183 ± 9 crossings (median 184) in the CC. LR rats produced 125 ± 8 crossings (median 120, $n = 9$). While rats HR produced 229 ± 10 crossings (median 216, $n = 6$). In 20 rats evaluated in the FST a week after CC, the immobility time (IT) was increased ($p < 0.01$) and climbing time (CT) decreased ($p < 0.01$) significantly between the two days with no change in swimming time (ST; paired t-test). However, when this group HR and LR rats were evaluated separately for rats LR now only reduced the ST. IT increased and CT declined for HR rats. The number of crosses made by LR rats, but not for the HR, showed correlation with IT and CT.

Conclusions. The differential response to a novel environment of Wistar rats female predicts their performance on FST.

Key words: low / High Respondent to novel environment; animal models, coping styles, impulsivity

INTRODUCCIÓN

En la nueva era de la información, las enfermedades del ánimo se situaron entre las principales causas de morbilidad en el mundo y los costos sociales que producen son enormes. Solamente la enfermedad depresiva ocupa el segundo lugar entre las causas de incapacidad laboral en los países con economías emergentes y, de acuerdo con las tendencias, será su primera causa en el año 2020 (1).

Aun cuando muchos factores de riesgo, tanto hereditarios como ambientales, han sido asociados con ellas, los mecanismos cerebrales específicos que producen estas enfermedades permanecen desconocidos (2). Sin embargo, se ha mostrado que, en humanos, algunos individuos

son más susceptibles que otros para desarrollar este tipo de enfermedades (3). Por lo que se refiere a los animales, también existen diferencias interindividuales en la tendencia para exhibir conductas que modelan la enfermedad depresiva (3). Durante las últimas décadas, diferentes disciplinas científicas han dirigido su interés hacia las causas y las consecuencias de este tipo de variaciones individuales dentro de una población, con el propósito de dilucidar la función ecológica de dichas variaciones conductuales individuales y sus consecuencias (3-5). En particular, en las ciencias biomédicas, la vulnerabilidad individual así como la medicina personalizada se han convertido en áreas importantes de investigación (6).

Diversos estudios en humanos han arrojado evidencia de que una de las principales condicionantes de las enfermedades del ánimo es el estrés ambiental. Por ejemplo, Kessler (1) mostró que individuos que enfrentan eventos estresantes como el asalto con violencia o la pérdida de la pareja tienen, respectivamente, 25 y 8 veces más probabilidades de sufrir un episodio de depresión mayor que individuos no expuestos a dichos tipos de estrés (1).

Al mismo tiempo, se sabe que algunos individuos son más susceptibles que otros a los efectos deletéreos del estrés (7). En particular, se ha mostrado que existen diferencias tanto en la severidad, como en el pronóstico de su respuesta al tratamiento en individuos que sufren enfermedades del ánimo como la depresión, las cuales están ligadas a la estrategia conductual con la que estos individuos afrontan el estrés (estilos de afrontamiento). Por ejemplo, se ha reportado que es peor el pronóstico para pacientes con depresión mayor en los que prevalece la rumiación (consideración repetitiva de pensamientos negativos) como síntoma preponderante, en comparación con pacientes en los que prevalece la "distracción de sí mismos", realizando exceso de trabajo o de ejercicio, como modalidad de comportamiento (6).

Existen múltiples estudios mostrando que

Índices depresivos y respuesta novedosa en hembras

uno de los factores predominantemente asociados a las diferencias en la personalidad de los individuos es el grado en que su conducta individual es guiada por los estímulos ambientales, así como la manera en que dichos individuos afrontan estos estímulos (4-8). Así, mientras algunos individuos muestran flexibilidad conductual y se adaptan fácilmente a los cambios ambientales, otros muestran mayor rigidez y se resisten a cambiar sus modalidades conductuales (5). Estos estudios han mostrado que las diferencias individuales en estilos de afrontamiento tienen un papel relevante en la adaptación de los individuos a su ambiente y pueden tener efectos en su adecuación darwiniana (9).

Maynard-Smith (1982) aplicó la teoría de juegos para analizar la conducta animal y encontró que la selección natural tiende a mantener un balance entre diferentes arreglos y estrategias conductuales. El ejemplo más popular de una estrategia evolutivamente estable se describe mediante la analogía conocida como “el juego del halcón y la paloma”. En esta analogía, a los individuos agresivos o que no necesitan de un estímulo externo y que se motivan a sí mismos, los llamaremos operativamente “Proactivos”, se les conoce también como “halcones”. Mientras que a los cooperadores relativamente pasivos se les llama “palomas”, aun cuando ellos son miembros de la misma especie. En situación de competencia, los “halcones” muestran una conducta agresiva hasta que son lesionados o cuando el oponente se rinde. Son dominantes y cuando ganan se quedan con todo el recurso en juego. Por su parte, las “palomas” evaden la competencia y/o adoptan estrategias pasivas en la competencia. En el largo plazo, un halcón se reproduce más que la paloma cuando los recursos son abundantes. Pero cuando la circunstancia cambia y los recursos se tornan escasos, entonces la estrategia conductual de la paloma, que es proclive a compartir recursos, se vuelve más eficiente para sobrevivir (10).

Se ha mostrado que es posible detectar

individuos con una respuesta diferenciada a estímulos estresantes específicos dentro de una misma población. Por ejemplo, Bignami (1965) estudió la respuesta de inmovilización a un ruido intenso de ratas albinas Wistar (11), encontrando que ciertas ratas se inmovilizan por poco tiempo (< 5 segundos), es decir, que expresan un bajo nivel de “evitación pasiva” (aquella en que no realizar una conducta determinada, elimina un estímulo aversivo). En contraste, tienen latencias menores para alejarse activamente del estímulo aversivo (evitación activa alta). Estas ratas fueron denominadas “Ratas Romanas de evitación alta” (RHA, *Roman high avoidance*). Por otra parte, Bignami halló que otras ratas se inmovilizan por más tiempo (> 10 segundos) y, en consecuencia, presentan latencias mayores a alejarse del estímulo aversivo (evitación activa baja); por lo que las llamó “Ratas Romanas de evitación baja” (RLA, *Roman low avoidance*). Es interesante que, desde entonces, se haya mostrado que las ratas RHA también exhiben mayor actividad locomotora y menor latencia al primer desplazamiento en la prueba de campo abierto. En la prueba de nado forzado (PNF), las ratas RLA exhiben conducta parecida a la depresión, la cual se caracteriza por mayor inmovilidad y menos intentos por escalar las paredes del tanque en comparación con ratas RHA (12). Piras y col. (2010) han demostrado que el tratamiento con fármacos antidepressivos a dosis subagudas y crónicas reduce la inmovilidad e incrementa la conducta de escalamiento de las paredes del tanque y el nado, pero no en ratas RHA (12,13).

Reactividad al ambiente novedoso. La prueba de corredor circular (CC) descrita por Le Moal y col. (1969) se usa para evaluar la reactividad de los animales a un ambiente novedoso (14). En esta prueba, se deposita a la rata en un CC, de manera que esta solo puede ver una sección del mismo, por lo que se puede evaluar la inclinación natural del roedor a explorar un área desconocida.

Flores-Serrano *et al.*

Así, la distancia recorrida por la rata en el CC se considera un índice de la respuesta locomotora del roedor a ambientes novedosos (15). Así, sujetos que reaccionan activamente a ambientes novedosos recorrerán mayores distancias en el corredor que sujetos que reaccionan pasivamente. Se ha mostrado que las ratas machos expresan una correlación negativa entre su tiempo de inmovilidad en la PNF y la distancia que recorren ambientes novedosos, como el CC o la arena abierta (16,17). Muchas otras tendencias conductuales han sido asociadas a la dicotomía RLA/RHA, lo que ha llevado a plantear un modelo de dos niveles para categorizar estas dos líneas (18,19). El primer nivel lo constituye el estilo de afrontamiento de situaciones novedosas o generadoras de estrés, mientras que el segundo nivel lo constituye la emocionalidad de los individuos. Así, las ratas RLA se caracterizan por alta emocionalidad y un estilo de afrontamiento reactivo, que las lleva a conductas predominantemente pasivas ante situaciones novedosas o estresantes (pobre o nulo aprendizaje de evitación activa de estímulos aversivos, mayor probabilidad y tiempo “congeladas”, poca persistencia ante la falta de reforzadores, mayor latencia a explorar ambientes nuevos). En contraste, las ratas RHA se caracterizan por una baja respuesta emocional y un estilo de afrontamiento proactivo (alta capacidad de aprendizaje de evitación activa, poco “congelamiento”, mayor persistencia ante la falta de reforzadores, menor latencia a la exploración de ambientes nuevos (18-20). Podría argumentarse que el estilo de afrontamiento reactivo es consistente con las características de un sujeto depresivo “vuelto sobre sí mismo”, mientras que el estilo de afrontamiento “proactivo” podría asemejarse al de un sujeto depresivo que “se olvida de sí mismo” con un incremento de actividad. Hasta donde sabemos, la posibilidad de que exista una liga entre líneas de baja o alta evitación activa, estilos de afrontamiento y respuesta conductual en un modelo de depresión no ha sido explorada.

Prueba de nado forzado en la rata (PNF). En este protocolo conductual descrito por Porsolt y col., 1977 (21), se deposita una rata o un ratón en un cilindro de agua a 25°C de temperatura, de manera que no puede pararse en el fondo y tiene que nadar para poder respirar. La prueba se realiza en dos días: una primera sesión de 15 minutos y otra sesión de 5 minutos al día siguiente a la misma hora. En las dos sesiones se registran los tiempos que el roedor pasa realizando 4 diferentes conductas (nado, escalamiento en las paredes del cilindro, buceo e inmovilidad). El tiempo que el roedor pasa inmóvil (es decir, únicamente realizando los movimientos indispensables para mantener su cabeza fuera del agua) ha sido empleado como un indicador de “desesperanza” porque el animal ha aprendido que es imposible escapar (18). Existe considerable controversia sobre la validez de las conductas registradas y del procedimiento como modelo de la depresión en humanos; pero desde su introducción (18) se ha convertido en el protocolo conductual más utilizado para evaluar la efectividad de fármacos con potencial antidepressivo (22).

En este trabajo, nos proponemos comparar la conducta exhibida por ratas Wistar hembras, con respuesta locomotora baja y alta a ambientes novedosos, cuando son sometidas al ambiente novedoso o a la PNF. Proponemos la hipótesis de que, al enfrentar la PNF, las ratas de baja reactividad a ambientes novedosos (LR; evaluada con la prueba de corredor circular, CC) exhibirán conductas características de ratas “desesperanzadas” (deprimidas), mientras que las ratas de alta reactividad a ambientes novedosos (HR) exhibirán conductas características de ratas no deprimidas. Predecimos que, en consecuencia, las ratas LR mostrarán, en la primera sesión de la PNF, tiempos de inmovilidad significativamente mayores junto con tiempos de escalamiento y de nado significativamente menores que los de las ratas HR. Más aún, si las ratas LR “aprenden a desesperar”, esperamos que en la segunda

Índices depresivos y respuesta novedosa en hembras

fase de la PNF sus tiempos de inmovilidad y de escalamiento aumenten significativamente y el nado disminuya significativamente con respecto a la primera fase. En el caso de las ratas HR, se espera que entre la primera y la segunda fase de la PNF el tiempo de inmovilidad no difiera o, incluso, se reduzca significativamente y que los tiempos de escalamiento y de nado no difieran o muestren reducciones significativas. Asimismo, verificamos la existencia de correlaciones entre la respuesta locomotora a ambientes novedosos (número de cruzamientos, como índice de la distancia recorrida en el CC) y la conducta en la PNF tanto en ratas LR como en ratas HR.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 40 ratas Wistar hembras de 215-230 g (2-3 meses de edad), que fueron alojadas en grupos de 6 y mantenidas en el laboratorio durante, al menos, 1 semana antes de la prueba, con ciclos de luz/oscuridad 12:12 (luces encendidas a las 07:00), a una temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Los alimentos y el agua se administraron *ad libitum*. Todos los experimentos se llevaron a cabo entre las 11:00-15:00 h. No se controló el ciclo estral. Todas las ratas fueron habituadas durante siete días en el laboratorio. En el séptimo día en que fueron evaluadas en la prueba de CC (véase abajo), devueltas a sus jaulas y, 7 días después, fueron evaluadas en la PNF. Todas estas manipulaciones se realizaron en la misma habitación y bajo el cuidado de los mismos experimentadores. Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética institucional del CIR-UADY y se hicieron todos los esfuerzos para minimizar las molestias a los animales de acuerdo con las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (1996) (23).

Respuesta al ambiente novedoso (prueba de CC). Cada rata se colocó en un corredor circular de acrílico negro con diámetros externo e interno de 50 cm y 40 cm, respectivamente (perímetro

externo = 157.08 cm), y con una altura de 40 cm (16). Líneas blancas radiales situadas cada 10 cm (de acuerdo con el perímetro interno del corredor) sirvieron para calcular la distancia recorrida por las ratas. La actividad motora se grabó con una cámara de vídeo y los vídeos se observaron posteriormente al experimento. El observador registró el número de veces que cada rata cruzó una línea radial (se registró como número de cruces) durante un lapso de 30 min, lo que permitió estimar la distancia total recorrida en ese tiempo. El grupo de 40 ratas fue dividido en tres grupos utilizando los percentiles 34 y 66 de la distribución de cuentas de locomoción. Se consideró como grupo de baja reactividad (LR) a las ratas con número de cruces \leq al valor en el percentil 34 (i.e., ratas en el tercil 1) y como grupos de alta reactividad (HR) a las ratas con número de cruces \geq al valor en el percentil 66 (i.e., ratas en el tercil 3) (16).

PNF. Se realizó de acuerdo con la técnica descrita por Detke y Lucki (1996) (24). Las 40 ratas hembras se habituaron siete días en el laboratorio. En el séptimo día en que fueron evaluadas en la prueba de corredor circular, devueltas a sus jaulas y, 7 días después, fueron evaluadas en la PNF. Todas estas manipulaciones se realizaron en la misma habitación y bajo el cuidado de los mismos experimentadores. Las ratas se introdujeron en un cilindro de acrílico (20 cm de diámetro y 50 cm de altura), lleno de agua hasta 30 cm de la base y se mantuvieron a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. El agua se cambió después de cada sesión de nado. Cada animal fue sometido a dos sesiones de natación separadas por 24 h. En la primera sesión, los animales permanecieron en el agua durante 15 minutos, mientras que la segunda sesión duró solo 5 min. Al final de cada prueba, el animal fue retirado del cilindro y se le colocó bajo una lámpara de calentamiento durante 30 minutos. Las ratas se alojaron individualmente entre las sesiones. Los primeros 5 min de las dos sesiones fueron grabados en vídeo para el registro de conducta. Contamos

el comportamiento predominante en cada período de 5 segundos (una cuenta) y se reportó el número de cuentas acumuladas durante los primeros 5 minutos de la primera sesión, así como para toda la duración de la segunda sesión (5 minutos), como fue descrita por Detke y Lucki, 1995 (24). El tiempo de inmovilidad (TI) se define como la suma del tiempo que la rata permaneció flotando en el agua realizando únicamente la mínima cantidad de movimientos necesarios para mantener su nariz por encima del agua. El tiempo de escalamiento (TE) se define como el tiempo durante el cual la rata rascaba las paredes del tanque con sus patas delanteras y se movía en el agua en una posición vertical con respecto a la pared del cilindro. El tiempo de nado (TN) fue la suma del tiempo pasado en posición horizontal y haciendo más de los movimientos activos necesarios para simplemente mantener su cabeza por encima de la superficie del agua, generalmente desplazándose de un lado a otro del tanque.

Análisis de datos. Los resultados se presentan en gráficas de dispersión y se analizaron usando la

prueba t pareada o ANOVA de dos vías seguida por la prueba de Bonferroni. La prueba de regresión lineal de Pearson se aplicó entre las cuentas de inmovilidad (TI) o las cuentas de escalamiento (TE) contados en la primera o la segunda sesión de la PNF, con la distancia recorrida de ratas clasificadas como HR y LR en la prueba del CC. Estos análisis se realizaron utilizando el programa comercial “Prisma, GraphPad versión 5” y se aceptó un resultado como significativo cuando $p < 0.05$.

RESULTADOS

Reactividad a ambientes novedosos. La gráfica de dispersión de la **Figura 1A** muestra las cuentas que realizaron las 40 ratas evaluadas en el CC indicando la mediana y los límites de los cuartiles internos de la población. Esta población se dividió en tres utilizando los percentiles 34 y 66 de la población. Se seleccionaron para su estudio las ratas de los terciles 1 y 3 (ver métodos). La gráfica de dispersión en la **Figura 1A** muestra la distribución del número de cruzamientos de cada una de las 40 ratas evaluadas durante los 30

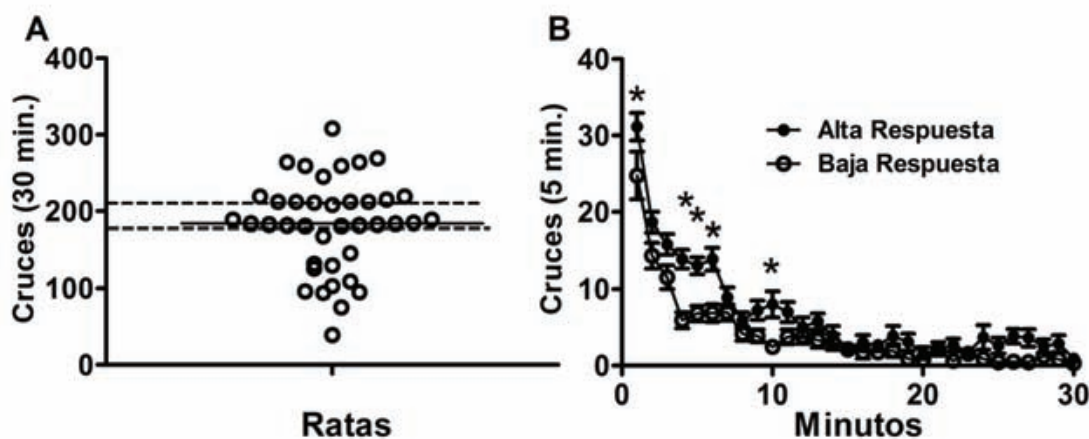


Figura 1. Distancia recorrida en el corredor circular por las ratas Wistar hembras clasificadas por su respuesta al ambiente novedoso: ratas de baja reactividad (debajo de la mediana) y ratas de alta reactividad (ratas HR; arriba de la mediana). A) Los puntos indican el número de cruces de cada rata durante los 30 minutos de la prueba del corredor circular. Las líneas horizontales indican, de abajo hacia arriba, el cuartil interno inferior, la mediana y el cuartil interno superior. Las 40 hembras observadas tuvieron una media de 183 ± 9 cruces (mediana = 184). Las ratas con conteos de cruces dentro del tercil 1 (“LR”) tuvieron una media de 125 ± 8 cruces (mediana de 120; $n = 9$), mientras que las ratas del tercil 3 (“HR”) tuvieron una media de 229 ± 10 cruces (mediana 216; $n = 6$). B) Curso temporal del número de cruces realizados cada minuto con su error estándar, por las ratas LR y HR. Los asteriscos marcan los puntos en donde la prueba Bonferroni de múltiples comparaciones, después de ANOVA de doble vía, indicó diferencias significativas * $p < 0.01$

Índices depresivos y respuesta novedosa en hembras

minutos en el CC. La distribución se aproxima a una normal de acuerdo con las pruebas de normalidad D'Agostino & Pearson ómnibus y de Shapiro-Wilk ($p > 0.05$; $p < 0.05$; GraphPad Prism versión 5). La gráfica B de la **Figura 1** muestra las curvas de adaptación temporal del promedio \pm el error estándar del número de cruzamientos cada minuto en el CC, por las ratas de los dos grupos. Se encontraron diferencias significativas entre las dos curvas en varios puntos (**Figura 1B**).

Prueba de nado forzado. De las 40 ratas evaluadas en el CC, 20 ratas seleccionadas aleatoriamente y que no recibieron ningún tratamiento fueron evaluadas una semana después en la prueba de nado forzado. En promedio, este grupo mostró incremento significativo en TI, decremento significativo en TE sin cambio en el TN entre el día 1 y el día 2 de la PNF (pruebas de t pareadas, $p < 0.01$ en todas las comparaciones, **Figura 2**). Los puntos en la gráfica de la **Figura 2** indican el número de cuentas de inmovilidad (TI), nado (TN) y de escalamiento (TE) durante la primera (día 1) y la segunda (día 2) sesión de la prueba de nado forzado aplicado a las 20 ratas. Como se indica, en conjunto el TI se incrementó ($p < 0.01$), el TE decreció significativamente ($p < 0.01$) entre los dos días, mientras que no hubo cambio en el tiempo de nado (prueba t pareada).

Este patrón cambió cuando las 20 ratas fueron identificadas como LR (ratas en el tercil 1) o HR (ratas en el tercil 3) por su desempeño previo en el corredor circular y cuando su conducta en la PNF fue analizada por separado para cada grupo (**Figura 3**). Las ratas LR ($n = 9$) mostraron una reducción significativa del TN ($p < 0.05$) entre el día 1 y el día 2 de la PNF, pero sus TI o TE no difirieron significativamente entre ambos días (pruebas de t pareadas; **Figura 3A**). Por su parte, las ratas clasificadas como HR ($n = 6$) mostraron un incremento significativo en el TI ($p < 0.01$) y una reducción significativa en el TE ($p < 0.002$),

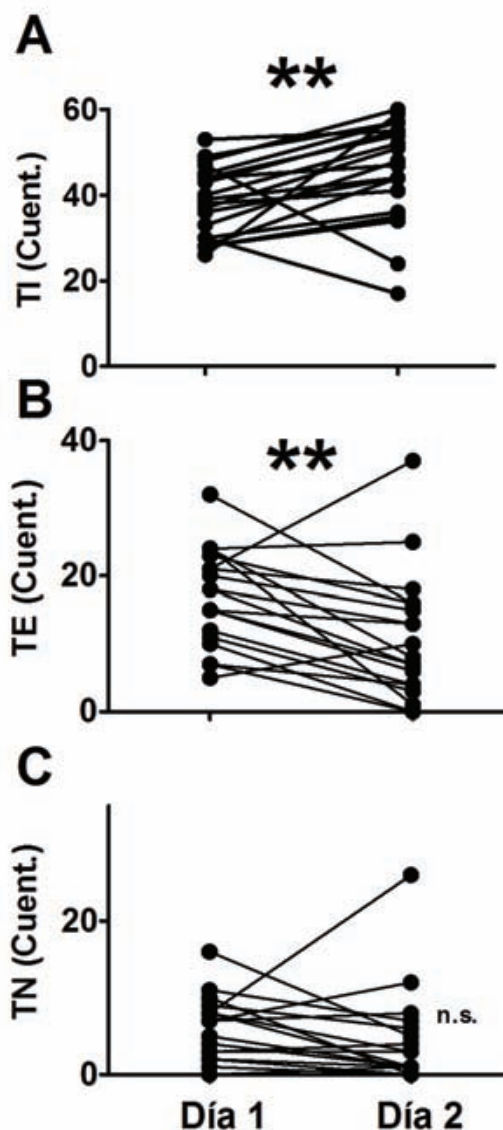


Figura 2. Conductas pasiva y activa de las ratas Wistar hembras durante los dos días de la prueba de nado forzado. Los puntos indican el número de cuentas de: tiempo de inmovilidad (TI, A), de escalamiento (TE, B) y del tiempo de nado (TN, C) predominante en cada intervalo de 5 segundos durante los 5 minutos iniciales de la primera sesión (Día 1): $TI = 38 \pm 2$; $TN = 5 \pm 1$; $TE = 16 \pm 2$. Y la segunda sesión (Día 2): $TI = 46 \pm 3$; $TN = 4 \pm 1$; $TE = 10 \pm 1$ en la prueba de nado forzado. Los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0.01$; prueba t pareada) en las conductas entre el día 1 y el día 2 de la prueba.

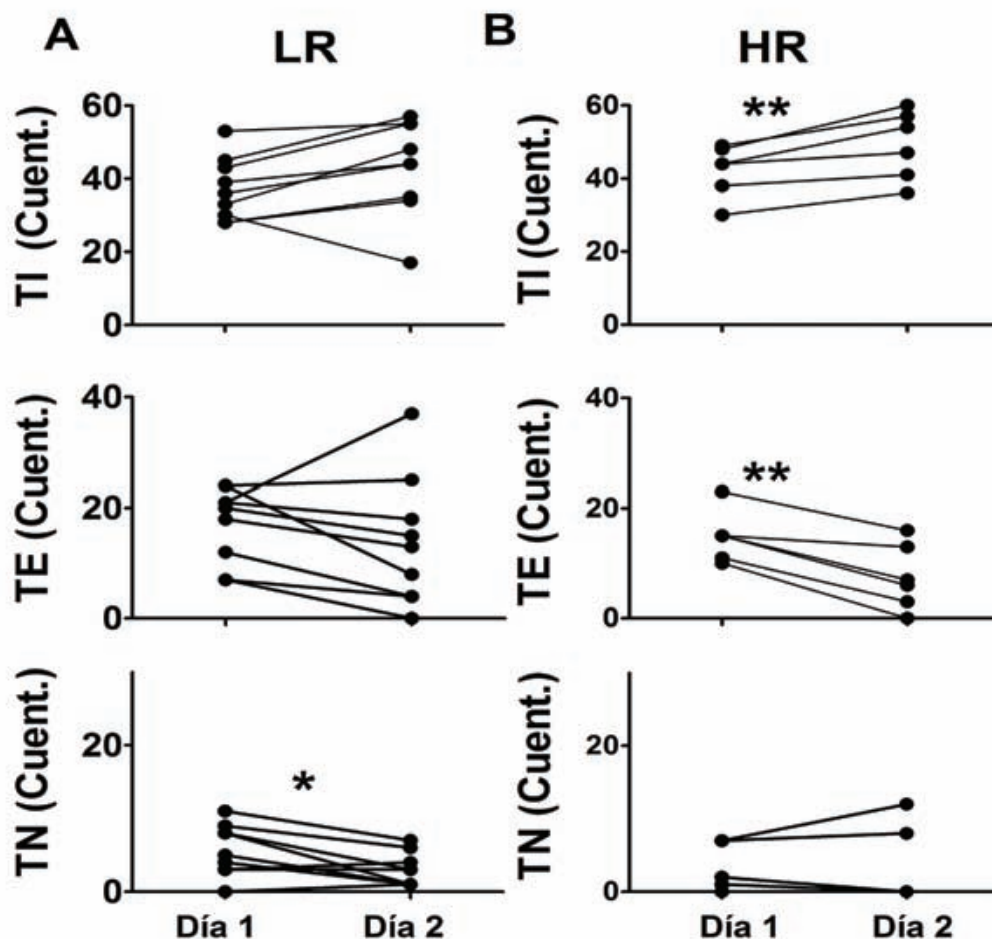


Figura 3. Conductas pasiva y activa de las ratas Wistar hembras durante los dos días de la prueba de nado forzado, en ratas clasificadas por su baja respuesta (LR; A) y alta respuesta (HR, B) a ambientes novedosos de acuerdo con su desempeño en la prueba del corredor circular. Los puntos indican, para cada rata, el tiempo de inmovilidad (TI), el tiempo de escalamiento (TE) y el tiempo de nado (TN) predominante en cada intervalo de 5 segundos durante los 5 minutos iniciales de la primera (Día 1) y la segunda (Día 2) sesión de la prueba de nado forzado. Ratas LR día 1 y día 2: IT; 37 ± 3 y 43 ± 4 . ST; 6 ± 1 y 3 ± 1 . CT; 17 ± 2 y 14 ± 4 . Ratas HR: IT; 37 ± 3 y 43 ± 4 . ST; 6 ± 1 y 3 ± 1 . CT; 17 ± 2 y 14 ± 4 . Los asteriscos indican diferencias significativas entre las conductas entre el día 1 y el día 2 de la prueba (pruebas t pareadas, * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$).

pero no mostraron diferencias significativas en el TN entre los días 1 y 2 de la PNF (pruebas de t pareadas, **Figura 3B**).

Ya que previamente se ha mostrado que las ratas Sprague-Dawley machos expresan una correlación entre su TI en la PNF y la distancia recorrida en el CC (17), exploramos si las ratas Wistar hembras expresan una correlación análoga entre la distancia recorrida en la CC y las tres variables conductuales evaluadas en la PNF

(TI, TE y TN) en las dos sesiones de la prueba. Cuando examinamos en conjunto a las 20 ratas que fueron sometidas a la PNF, no encontramos ninguna correlación entre dichas variables (n.s., no mostrado). Posteriormente, exploramos si estas correlaciones ocurrían si se evaluaba a las ratas LR y HR por separado. No se encontró correlación significativa alguna entre la distancia recorrida en la CC y TI, TE o TN en las ratas HR durante el día 1 o el día 2 de la PNF (n. s. en las

Índices depresivos y respuesta novedosa en hembras

tres correlaciones exploradas; no mostrado). Sin embargo, como se muestra en la **Figura 4**, cuando evaluamos a las ratas LR se detectó una correlación negativa entre la distancia recorrida en el CC y el TI durante el primer día de la PNF ($r^2 = -0.53$; $p < 0.03$), pero no se halló una correlación significativa con el TE (n.s., **Figura 4A**). Cuando realizamos la misma evaluación en el día 2 de la PNF, en cambio, encontramos una correlación negativa significativa entre la distancia recorrida en el CC con el TI y una correlación positiva significativa entre dicha distancia y el TE ($r^2 = -0.58$ y 0.61 , respectivamente; $p < 0.02$ en ambos casos; **Figura 4B**). El TN no mostró ninguna correlación (no mostrado).

DISCUSIÓN

En este trabajo, hemos mostrado que las ratas Wistar hembras expresan gran variabilidad en su respuesta motora al ambiente novedoso del CC. Pueden ser divididas en dos grupos, uno de respuesta baja (LR; el tercio que mostró menor

respuesta motora al ambiente novedoso) y otro de respuesta alta (HR; el tercio que mostró mayor respuesta motora a dicho ambiente novedoso). Las ratas LR, pero no las HR, expresan correlaciones de la distancia recorrida en el CC con el TI (negativas, tanto en el día 1 como en el 2) o con el TE (positiva, pero solo en el día 2) durante la prueba de nado forzado.

Las ratas utilizadas en este trabajo proceden del mismo bioterio y fueron manipuladas únicamente por las mismas personas en todo el transcurso del trabajo. Se hicieron todos los esfuerzos para impedir que factores externos alteraran su conducta. Dado que las ratas no tuvieron experiencia previa ni en el CC ni de nado, suponemos que las diferencias encontradas en su conducta en dicho corredor y en la prueba de nado forzado se deben a la motivación intrínseca asociada a su fenotipo (5,7).

Nuestros resultados indican que la distancia recorrida en el CC, nuestro índice de reactividad al ambiente novedoso, predice un

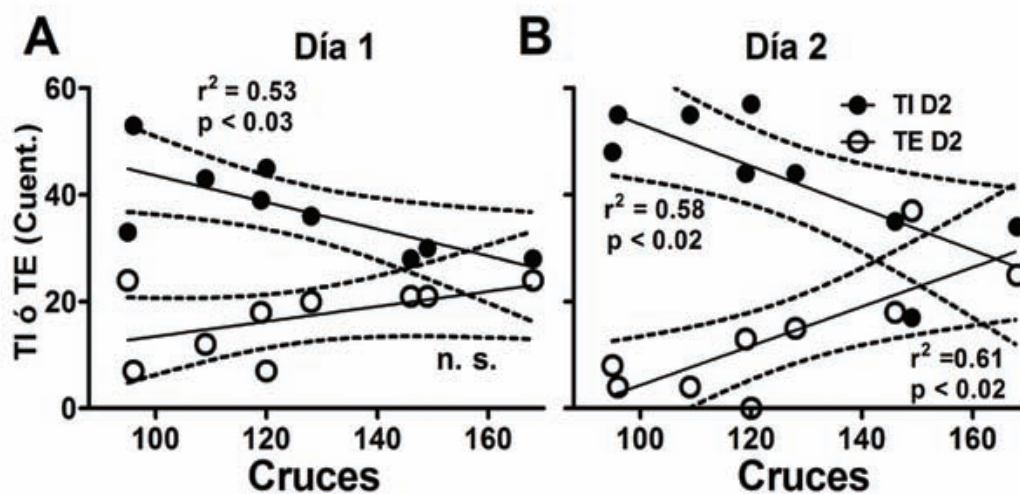


Figura 4. En ratas Wistar hembra de baja respuesta a ambientes novedosos (ratas LR; $n = 8$), la distancia recorrida en la prueba de corredor circular (Cruces) correlaciona significativamente con el tiempo de inmovilidad en el día 1 (A; TI, $F_{1, 7} = 7.9$) y el día 2 (B; TI, $F_{1, 7} = 9.5$) de la prueba de nado forzado. El tiempo de escalamiento (TE) correlacionó en la sesión del Día 2 (B TE; $F_{1, 7} = 10.97$) de la prueba de nado forzado. Las líneas continuas indican el mejor ajuste a una recta de los datos analizados, utilizando el modelo de regresión lineal de Pearson. Las líneas punteadas indican el intervalo de confianza de 95% de cada modelo

comportamiento diferencial de las ratas en la prueba de nado forzado. Las ratas con menor reactividad motora a un ambiente novedoso (ratas LR) no mostraron cambios significativos en su tendencia a permanecer inmóviles en el agua o a intentar escalar las paredes del tanque en asociación con la experiencia en la prueba de nado forzado (en otras palabras, no hubo cambios en esas conductas entre el día 1 y el día 2 de la prueba). Esto sugiere que, si este grupo de ratas adquieren algún aprendizaje en la PNF, este no se expresa en su tendencia a la inmovilidad o a escalar. Sin embargo, las ratas LR sí mostraron una disminución significativa en su tendencia a nadar, asociada a la experiencia de nado forzado. De manera interesante, las ratas HR mostraron una tendencia opuesta, pues en asociación con la experiencia de nado forzado aumentaron su tendencia a la inmovilidad y redujeron su tendencia al escalamiento, en tanto que su tendencia al nado no cambió. En resumen, las ratas HR parecen aprender a dejar de afrontar activa y persistentemente la situación estresante que plantea el tanque de nado forzado, mientras que las ratas LR no parecen adquirir dicho aprendizaje. Estos resultados concuerdan con los reportados previamente por Taghzouti y col. (1999) para ratas machos (16). Los patrones arriba descritos sugieren que, a pesar de compartir algunas características, los dos tipos de reactividad motora identificados en este estudio (LR y HR) no son equiparables a las líneas de ratas RLA y RHA. Por ejemplo, las ratas RLA muestran una pobre capacidad de aprendizaje de evitación activa y las ratas LR aparentemente no aprenden a mantenerse inmóviles y dejar de escalar. Por otra parte, si bien las ratas HR comparten con las RHA una tendencia a la proactividad y a la exploración de ambientes novedosos, las HR de este estudio no comparten la persistencia y baja capacidad de ajuste de las RHA, pues aparentemente aprendieron a mantenerse inmóviles y dejar de escalar.

Por lo que se refiere a las correlaciones entre la conducta en la PCC y en la PNF, fue

imposible encontrarlas en un grupo de ratas elegidas aleatoriamente y que integraba todo el espectro de respuestas conductuales en ambos escenarios. Sin embargo, cuando se aislaron dos grupos en los extremos del espectro de reactividad a ambientes novedosos (LR y HR), fue posible identificar correlaciones significativas, aunque únicamente entre las ratas de más baja reactividad a ambientes novedosos (ratas LR; **Figura 4**). Entre estas ratas, aquellas más móviles ante un ambiente novedoso tendieron menos a la inmovilidad tanto en su primera experiencia con el tanque de nado forzado como en la segunda. De manera consistente con el resultado de nuestra comparación de TI y TE entre los días 1 y 2, en las ratas LR los valores de los coeficientes de correlación entre distancia recorrida y TI y las pendientes de los modelos lineales son semejantes en ambos días de la PNF. Además, la experiencia del tanque de nado forzado pareció hacer emerger una correlación positiva entre actividad motora en la CC y el TE entre las ratas LR, que no existía previamente a la PNF: mientras más móviles eran estas ratas en la PCC mayor era su tendencia a escalar en el día 2. Alternativamente para las ratas HR, nuestros resultados indican que en ellas la reactividad motora a ambientes novedosos y las respuestas en la PNF no mostraron correlación.

¿Cómo se relacionan las condiciones de reactividad a ambientes novedosos LR y HR con otras categorizaciones de organismos basadas en sus tendencias conductuales? La literatura considera una diversidad de términos para estas categorizaciones (personalidades, tipos conductuales dentro de síndromes conductuales, estilos de afrontamiento) que suelen involucrar ensambles de conductas correlacionadas que son característicos de los individuos y consistentes a través del tiempo y de las situaciones (contextos ecológicos) (4,25). De relevancia para este estudio son los estilos de afrontamiento descritos para ratas, las estrategias exploratorias observadas en aves (exploradores lentos y rápidos de espacios

Índices depresivos y respuesta novedosa en hembras

novedosos) y las dimensiones de personalidad timidez-osadía y reactividad-actividad, observadas en múltiples animales (4,7). La mayoría de estas categorizaciones plantean extremos en cuyo lado “más adaptable” se encuentran individuos que responden (reaccionan) fuertemente a los cambios en el ambiente, si bien no suelen llevar a cabo conductas conspicuas o intensas, son lentos para explorar ambientes novedosos, se les considera tímidos y se asume que están mejor equipados para enfrentar ambientes cambiantes. En el lado “menos adaptable” del espectro se hallan individuos proactivos, que tienen actividad frecuente e intensa, exploran rápidamente los ambientes novedosos, son osados en situaciones que entrañan riesgo, son persistentes y modifican poco su conducta frente a cambios en el ambiente, por lo que se les considera más exitosos en medios estables (4). Los grupos LR y HR de nuestro estudio no se ajustan con precisión a estos esquemas, pues aunque el primer grupo estaba constituido por ratas con menos tendencia a la exploración en el CC (y que, por tanto, podrían ser consideradas en la parte “más adaptable” del espectro) exhibieron una pobre capacidad para aprender en la PNF. Por su parte, las ratas HR, que por su tendencia a desplazarse frecuentemente y explorar el CC podrían ser consideradas similares a animales “menos adaptables”, aumentaron su tendencia a la inmovilidad y redujeron su tendencia a escalar como resultado de la experiencia de la PNF. Una posibilidad es que las ratas HR, que en el corredor circular exhiben mayor actividad motora, se resisten a seguir ese patrón en la condición estresante del nado forzado. Es preciso hacer estudios específicos que permitan explorar otras correlaciones conductuales del espectro LR/HR.

La reactividad al ambiente novedoso que se evalúa en la prueba del CC es una de las conductas que varía entre los individuos de una población. De hecho, se encontró que la diferencia entre individuos con baja y alta respuesta motora al ambiente novedoso, medida en la prueba del

CC, es capaz de distinguir los individuos con mayor susceptibilidad a la adicción a las drogas, como la anfetamina, de los que son relativamente resistentes (23). Esto sugiere que este subgrupo de ratas es comparativamente más resistente al estrés intenso que el subgrupo de ratas HR. El ajuste significativo que se encontró para las ratas del subgrupo LI a una línea recta, entre el TI ($r^2 = 0.58$) o el TE ($r^2 = 0.61$) con la distancia recorrida en el CC, sugiere que la actividad motora en el nado forzado es similar a su respuesta motora en la situación de bajo estrés relativo del CC. Mientras que el subgrupo de ratas HR que no mostró dicha correlación, presumiblemente, desarrolla una estrategia alternativa para adaptarse a la situación de estrés (7).

Estas diferencias también podrían estar asociadas a diferencias en la sensibilidad a las drogas antidepresivas, como se mostró en ratas machos (16,17). Diferencias que también se han observado en ratas hembras (26).

Los animales con diferentes estilos de afrontamiento también expresan diferencias en la respuesta de sus sistemas hormonales a los estímulos estresantes y en su respuesta inmune. En particular, se ha mostrado que los roedores que desarrollan una estrategia proactiva desarrollan un nivel basal de baja actividad del eje HPA con baja concentración de corticosterona en el plasma y niveles altos de catecolaminas (activación simpática alta). En contraste, los animales con estrategia reactiva muestran un nivel de activación del eje hipotálamo-hipofisario más elevado, con mayor activación parasimpática (27).

La fase del ciclo estral en que se encontraban las ratas cuando fueron evaluadas en el CC podría haber influido en su desempeño. En trabajos previos, no se encontró influencia de este ciclo en su desempeño en la prueba de nado forzado (28). Aunque se ha mostrado la correlación entre el TI durante el nado forzado y la distancia recorrida en el CC, en esos estudios no se utilizaron ratas hembras y tampoco se observó el cambio en la

Flores-Serrano *et al.*

conducta basal de las ratas HR y LR en el nado forzado (16). Davis y col. (2008) reportaron que, durante el diestro/metaestro, tanto las ratas HR como las ratas LR muestran mayor actividad motora que durante el proestro/estro. Sin embargo, estas diferencias fueron similares tanto en las ratas HR como en las LR y no obscurecieron sus diferencias en la respuesta locomotora el ambiente novedoso. Es importante investigar si las drogas antidepressivas o si la fase del ciclo estral modifican la conducta en el corredor circular y la correlación entre la actividad motora en el CC y durante el nado forzado.

AGRADECIMIENTOS

Financiado por CONACYT CB-2011-167436; UADY, CIRB-2011-004

REFERENCIAS

1. **Kessler R.** The effects of stressful life events on depression. *Annu Rev Psychol* [Review]. 1997 48:191-214.
2. **Schmidt EF, Warner-Schmidt JL, Otopalik BG, Pickett SB, Greengard P, Heintz N.** Identification of the cortical neurons that mediate antidepressant responses. *Cell*. 2012 May 25;149(5):1152-63.
3. **Krishnan V, Nestler EJ.** Animal models of depression: molecular perspectives. *Curr Top Behav Neurosci*. 2011 Jan 13;7:121-47.
4. **Sih A, Bell A, Johnson JC.** Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends Ecol Evol*. 2004 Jul;19(7):372-8.
5. **Wolf M, van Doorn GS, Weissing FJ.** Evolutionary emergence of responsive and unresponsive personalities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 Oct 14;105(41):15825-30.
6. **Ginsburg GS, Willard HF.** Genomic and personalized medicine: foundations and applications. *Transl Res*. 2009 Dec;154(6):277-87.
7. **Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Vegt BJ, Van Reenen CG, Hopster H, De Jong IC, Ruis MA, Blokhuis HJ.** Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neurosci Biobehav Rev*. 1999 Nov;23(7):925-35.
8. **Coppens CM, de Boer SF, Koolhaas JM.** Coping styles and behavioural flexibility: towards underlying mechanisms. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2010 Dec 27;365(1560):4021-8.
9. **Niemela PT, Vainikka A, Forsman JT, Loukola OJ, Kortet R.** How does variation in the environment and individual cognition explain the existence of consistent behavioral differences? *Ecol Evol*. 2013 Feb;3(2):457-64.
10. **Smith MJ.** Evolution and the theory of games. Cambridge: Cambridge University Press; 1982.
11. **Bignami G.** Selection for high rates and low rates of avoidance conditioning in the rat. *Anim Behav*. 1965 Apr-Jul;13(2):221-7.
12. **Piras G, Giorgi O, Corda MG.** Effects of antidepressants on the performance in the forced swim test of two psychogenetically selected lines of rats that differ in coping strategies to aversive conditions. *Psychopharmacology (Berl)*. 2010 Sep;211:403-14.
13. **Piras G, Piludu MA, Giorgi O, Corda MG.** Effects of chronic antidepressant treatments in a putative genetic model of vulnerability (Roman low-avoidance rats) and resistance (Roman high-avoidance rats) to stress-induced depression. *Psychopharmacology (Berl)*. [en línea] 2013 Jul 30. Disponible en: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23896995>.
14. **Moal M, Cardo B, Stinus L.** Influence of ventral mesencephalic lesions on various spontaneous conditioned behaviors in the rat. *Physiology and Behaviour*. 1969 Sep;4 :567 - 73.
15. **Piazza PV, Deminiere JM, Le Moal M, Simon H.** Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science*. 1989 Sep 29;245(4925):1511-3.
16. **Taghzouti K, Lamarque S, Kharouby M, Simon H.** Interindividual differences in active and passive behaviors in the forced-swimming test: implications for animal models of psychopathology. *Biol Psychiatry*. 1999 Mar 15;45(6):750-8.
17. **Jama A, Cecchi M, Calvo N, Watson SJ, Akil H.** Inter-individual differences in novelty-seeking behavior in rats predict differential responses to desipramine in the forced swim test. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008 Jun;198(3):333-40.
18. **Steimer T, la Fleur S, Schulz PE.** Neuroendocrine correlates of emotional reactivity and coping in male rats from the Roman high (RHA/Verh)- and low (RLA/Verh)-avoidance lines. *Behav Genet*. 1997 Nov;27(6):503-12.
19. **Coppens CM, de Boer SF, Steimer T, Koolhaas JM.** Correlated behavioral traits in rats of the Roman selection lines. *Behav Genet*. 2013 May;43(3):220-6.
20. **Steimer T, Driscoll P.** Divergent stress responses and coping styles in psychogenetically selected Roman high-(RHA) and low-(RLA) avoidance rats: behavioural, neuroendocrine and developmental aspects. *Stress*. 2003 Jun;6(2):87-100.
21. **Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M.** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977 Apr 21;266(5604):730-2.
22. **Slattery DA, Cryan JF.** Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nat Protoc*. 2012 Jun;7(6):1009-14.
23. **Guide for the care and use of laboratory animals.** National Research Council of U.S.A. Washington, 1996, National Academy Press.
24. **Detke MJ, Rickels M, Lucki I.** Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)* . 1995 Sep;121(1):66-72.
25. **Sih A, Bell AM, Johnson JC, Ziemba RE.** Behavioral syndromes: an integrative overview. *Q Rev Biol*. 2004 Sep;79(3):241-77.
26. **Clinton SM, Stead JD, Miller S, Watson SJ, Akil H.** Developmental underpinnings of differences in

Índices depresivos y respuesta novedosa en hembras

- rodent novelty-seeking and emotional reactivity. *Eur J Neurosci*. 2011 Sep;34(6):994-1005.
27. **Koolhaas JM**. Coping style and immunity in animals: making sense of individual variation. *Brain Behav Immun*. 2008 Jul;22(5):662-7.
28. **Flores-Serrano AG, Vila-Luna ML, Alvarez-Cervera FJ, Heredia-Lopez FJ, Gongora-Alfaro JL, Pineda JC**. Clinical doses of citalopram or reboxetine differentially modulate passive and active behaviors of female Wistar rats with high or low immobility time in the forced swimming test. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013 Jun 13;110C:89-97.
29. **Davis, B. A., S. M. Clinton, et al.** The effects of novelty-seeking phenotypes and sex differences on acquisition of cocaine self-administration in selectively bred High-Responder and Low-Responder rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008 Sep 10;90: 331-338.