



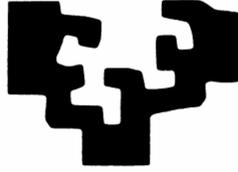
FACULTAD DE PSICOLOGÍA - PSIKOLOGIA FAKULTATEA

**ESTRÉS SOCIAL Y ESTRÉS MEDIO CRÓNICO:
CAMBIOS CONDUCTUALES,
NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS.
EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON
FLUOXETINA.**

Garikoitz Beitia Oyarzabal

Febrero 2007

eman ta zabal zazu



universidad
del país vasco

euskal herriko
unibertsitatea

**ESTRÉS SOCIAL Y ESTRÉS MEDIO CRÓNICO:
CAMBIOS CONDUCTUALES,
NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS.
EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON
FLUOXETINA.**

Garikoitz Beitia Oyarzabal

Febrero de 2007

Directoras de Tesis

Dra. Amaia Arregi Agirre

Dra. Larraitz Garmendia Rezola

Facultad de Psicología – Psikologia Fakultatea
Universidad del País Vasco – Euskal Herriko Unibertsitatea

Dpto. de Procesos Psicológicos Básicos y su Desarrollo
Oinarrizko Prozesu Psikologikoen eta euren Garapenaren Saila

Agradecimientos.

Tengo mucho que agradecer a todas las personas que me han ayudado en todo el recorrido que ha supuesto la realización de esta tesis doctoral, ya que sin su ayuda no hubiera sido posible. Creo también que no pueda expresar la verdadera gratitud que siento hacia ellos en estas líneas. A mis directoras de tesis, Larraitz y Amaia, muchas gracias porque han sabido dirigirme en buena dirección, siendo críticas y rigurosas (en términos académicos, por supuesto), han mostrado mucha paciencia conmigo y he aprendido mucho con ellas, y además, ahí han estado ayudándome en los experimentos. También tengo mucho que agradecer a mis otros compañeros, Oscar, Eduardo, Raul, Arantxa, Aitziber, Joxerra, Idoia... por una enorme lista de cosas que sería difícil de enumerar y por todo su apoyo. No puedo olvidar a Xabier, Leire y otros alumnos del practicum, que se esforzaron en aprender y me ayudaron también en su día. A las “nuevas generaciones”, Zuriñe y Eneritz por la emoción y el empeño que transmiten en el laboratorio, ahora les toca a ellas recoger el testigo y no tengo ninguna duda que lo harán muy bien y ahí estaremos para ayudarlas, porque dar también creo que es recibir. También quisiera agradecerles su ayuda a las chicas de Leioa, Bego y Maite, que también han estado ahí procesando muestras y muestras. A Luís, por su conocimiento estadístico, sus consejos y su paciencia. A mi familia y amigos por darme muchos ánimos. Y como no, a Jaione, que siempre ha estado ahí, mila esker!

Abreviaturas

5-HIAA	5-hidroxi-indolacético
5-HT	5-hidroxitriptamina, serotonina
ACTH	hormona adrenocorticotropa o corticotropina (del inglés, <i>adrenocorticotropic hormone</i>)
AEIC	autoestimulación eléctrica intracraneal
AVP	arginina vasopresina
BDNF	factor neurotrófico derivado del cerebro (del inglés, <i>brain derived neurotrophic factor</i>)
CD	marcadores de superficie celular (del inglés, <i>cluster designation</i>)
CD4	célula T cooperadora
CD8	célula T citotóxica o supresora
CMH	complejo mayor de histocompatibilidad
Con A	concanavalina A
CPA	célula presentadora de antígeno
CPL	condicionamiento de preferencia de lugar
cpm	cuentas por minuto
CRF	factor liberador de corticotropina (del inglés, <i>corticotropin releasing factor</i>)
DA	dopamina
DOPAC	3-4-dihidroxi-fenilacético
EEM	error estándar de la media
ELISA	ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (del inglés, <i>enzyme linked immunoabsorbent assay</i>)
EMC	estrés medio crónico
ES	estrés social
FSH	hormona estimulante del foliculo (del inglés, <i>follicle stimulant hormone</i>)

GC	glucocorticoides
GnRF	factor liberador de hormonas gonadotrópicas (del inglés, <i>gonadotropics releasing factor</i>)
HPA	eje hipotálamo pituitario adrenal
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución (del inglés, <i>high performance liquid chromatography</i>)
IFN	interferón
Ig	inmunoglobulina
IL	interleucina
IP	índice de proliferación
ISRS	inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
LH	hormona luteinizante
LPS	lipopolisacárido o endotoxina
MC	mineralocorticoides
NA	noradrenalina
NK	células asesinas naturales (del inglés, <i>natural killers</i>)
NPV	núcleo paraventricular
NTS	núcleo del tracto solitario
PFC	células formadoras de plaquetas (del inglés, <i>plaque-forming cells</i>)
PHA	fitohemaglutinina
POMC	propiomelanocortina
PRL	prolactina
PVE	postura de vigilancia extrema
RFC	células formadoras de rosetas (del inglés, <i>rosette-forming cells</i>)
RIA	radioinmunoanálisis
rpm	revoluciones por minuto

SAM	simpático adrenomedular
SBF	suero bovino fetal
SI	sistema inmunitario
SN	sistema nervioso
SNC	sistema nervioso central
SNP	sistema nervioso periférico
SNS	sistema nervioso simpático
SRBC	eritrocitos de carnero (del inglés, <i>sheep red blood cells</i>)
TEPT	trastorno de estrés post-traumático
TH	tiroxina hidroxilasa
TNF	factor de necrosis tumoral (del inglés, <i>tumor necrosis factor</i>)
TSH	hormona estimulante de la glándula tiroides
VIP	péptido intestinal vasoactivo (del inglés, <i>vasoactive intestinal peptide</i>)

ÍNDICE

I. INTRODUCCION.	1
1. EL FENÓMENO DE ESTRÉS.	5
2. LA RESPUESTA NEUROFISIOLÓGICA DE ESTRÉS.	11
El sistema monoaminérgico y la respuesta de estrés.	12
El sistema simpático-adrenomedular.	13
El eje hipotálamo pituitario adrenal.	14
El eje hipotálamo pituitario gonadal.	15
3. ESTRÉS Y SISTEMA INMUNITARIO: LA PSICONEUROINMUNOLOGÍA.	17
3.1. El sistema inmunitario.	19
3.2. Relaciones entre el sistema nervioso y el sistema inmunitario: La respuesta de estrés.	24
4. ESTRÉS Y ALTERACIONES ASOCIADAS.	31
5. ESTRÉS SOCIAL.	39
5.1. Introducción.	39
5.2. Cambios conductuales.	42
5.3. Cambios neuroquímicos.	46
5.4. Cambios neuroendocrinos.	50
5.5. Sistema inmunitario.	53
6. ESTRÉS MEDIO CRÓNICO.	57
6.1. El modelo de Estrés Medio Crónico.	57
6.2. Cambios neuroquímicos.	64
6.3. Cambios neuroendocrinos.	67
6.4. Sistema inmunitario.	69

7. LA FLUOXETINA.	73
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.	79
III. MATERIAL Y MÉTODOS.	87
1. SUJETOS Y ALOJAMIENTO.	87
2. PROCEDIMIENTO GENERAL.	87
2.1. EXPERIMENTO 1. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL.	89
2.2. EXPERIMENTO 2. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.	92
2.3. EVALUACIÓN CONDUCTUAL DE LOS EXPERIMENTOS 1 Y 2.	94
2.4. EXPERIMENTO 3. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO.	97
2.5. EXPERIMENTO 4. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.	100
2.6. PRUEBA DE CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA DE LUGAR DE LOS EXPERIMENTOS 3 Y 4.	102
3. ADMINISTRACIÓN DEL FÁRMACO.	105
4. ESTUDIO DE LA CAPACIDAD PROLIFERATIVA DE LAS CÉLULAS DEL BAZO.	105
4.1 Aislamiento y cultivo de las células mononucleares.	105
4.2. Determinación de la capacidad proliferativa de las células mononucleares del bazo.	107
5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD MONOAMINÉRGICA Y DE LOS NIVELES EN HIPOTALÁMO.	108
5.1. Preparación de las muestras.	108
5.2. Análisis cromatográfico.	108
6. DETERMINACIÓN DE CORTICOSTERONA EN SUERO SANGUÍNEO.	109
6.1. Procedimiento de radioinmunoensayo.	109
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	111

IV. RESULTADOS.	113
1. EXPERIMENTO 1. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL.	113
1.1. Estrés Social y conducta.	113
1.2. Estrés Social y sistema inmunitario.	114
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina-A (Con-A).</i>	114
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitohemaglutinina (PHA).</i>	115
1.3. Estrés Social y actividad monoaminérgica hipotalámica.	117
<i>Actividad serotoninérgica, niveles de 5-HIAA y 5-HT en hipotálamo.</i>	117
<i>Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.</i>	122
1.4. Estrés Social y niveles de corticosterona en suero.	128
2. EXPERIMENTO 2. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.	129
2.1. Estrés Social crónico y conducta social.	129
2.2. Estrés Social crónico y sistema inmunitario.	130
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina-A (Con-A).</i>	130
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitohemaglutinina (PHA).</i>	131
2.3. Estrés Social crónico y actividad monoaminérgica hipotalámica.	132
<i>Actividad serotoninérgica, niveles de 5-HIAA y 5-HT en hipotálamo.</i>	132
<i>Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.</i>	135
2.4. Estrés Social crónico y niveles de corticosterona en suero.	137
3. EXPERIMENTO 3. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO.	139
3.1. EMC y condicionamiento de preferencia de lugar.	139

3.2. EMC y sistema inmunitario.	140
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina-A (Con-A).</i>	140
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitohemaglutinina (PHA).</i>	140
3.3. EMC y actividad monoaminérgica hipotalámica.	141
<i>Actividad serotoninérgica, niveles de 5-HIAA y 5-HT en hipotálamo.</i>	141
<i>Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.</i>	143
3.4. EMC y niveles de corticosterona en suero.	145
4. EXPERIMENTO 4. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.	147
4.1. EMC y condicionamiento de preferencia de lugar.	147
4.2. EMC y sistema inmunitario.	149
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina-A (Con-A).</i>	149
<i>Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitohemaglutinina (PHA).</i>	149
4.3. EMC y actividad monoaminérgica hipotalámica.	150
<i>Actividad serotoninérgica, niveles de 5-HIAA y 5-HT en hipotálamo.</i>	150
<i>Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.</i>	151
4.4. EMC y niveles de corticosterona en suero.	152
V. DISCUSIÓN.	153
VI. CONCLUSIONES.	165
VII. BIBLIOGRAFÍA.	167

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN.

A lo largo de la evolución los organismos han adquirido un sistema de respuesta eficaz para poder hacer frente a las situaciones adversas a las que están constantemente sometidos. Nos referimos a la respuesta de estrés, en la que estas situaciones producen cambios en el sistema neuroendocrino y en la conducta. La respuesta fisiológica de estrés, que se produce ante una amenaza es un mecanismo que permite al organismo mantener la homeostasis. Ahora bien, esta respuesta que es necesaria y crucial para la supervivencia del individuo, tras situaciones de estrés traumáticas o crónicas, puede comprometer seriamente el estado de salud de los mismos. Muchos datos obtenidos en seres humanos indican que el estrés puede inducir una mayor susceptibilidad a la enfermedad, o provocar alteraciones emocionales, como la depresión o la ansiedad. Estas alteraciones están estrechamente relacionadas con un desequilibrio neuroquímico y suponen importantes cambios en el sistema neuroendocrino y en el sistema inmunitario. De esta manera, son muchos los estudios que han tratado de esclarecer la relación entre el estrés y los efectos que produce; así, no es poco el conocimiento adquirido desde los trabajos pioneros de Walter Cannon (Cannon, 1932) y Hans Selye (Selye, 1936) en torno a las implicaciones del estrés sobre el sistema neuroendocrino y sus consecuencias negativas, hasta los hallazgos en torno a la interacción bidireccional del sistema nervioso-sistema inmunitario y la relación entre el estrés y la susceptibilidad a la enfermedad, dentro del marco de la Psiconeuroinmunología. A lo largo de la década de los años 80, dentro de este área de conocimiento se realizaron gran cantidad de estudios dirigidos a explorar las bases celulares y moleculares de la comunicación entre ambos sistemas (Bellinger y cols., 1988; Bernton y cols., 1988; Blalock y Smith, 1980; Blalock, 1984; Blalock y cols., 1985a; Blalock y cols., 1985b; Felten y cols., 1985; Felten y cols., 1987; Felten y Felten, 1988; Felten y cols., 1988). A su vez, el interés por la importancia de los factores psicológicos y la modulación de la actividad inmunitaria fue impulsada por dos tipos de hallazgos experimentales: la posibilidad de condicionar la respuesta inmunitaria (Ader y Cohen, 1975) y la capacidad de modificar el impacto del estrés sobre el sistema inmunitario

mediante la manipulación de variables de tipo conductual (Laudenslager y cols., 1983). Sin embargo, el estrés no solo puede comprometer la salud a través de modificaciones de la actividad de sistemas como el inmunitario. En ocasiones, el estrés puede producir alteraciones en el funcionamiento cerebral que dificultan una adaptación psicológica y disminuyen la capacidad de afrontamiento del individuo ante el mismo, lo que puede dar lugar al desarrollo de trastornos como la ansiedad y la depresión. Estas patologías pueden manifestarse tanto de forma independiente, como en forma de un trastorno mixto. En estudios realizados tanto en animales como en humanos, los estresores pueden inducir una amplia gama de respuestas, desde la reacción de alarma inicial, hasta procesos de ansiedad subsiguientes que pueden desembocar en procesos depresivos.

La relación general entre las situaciones estresantes y la patología está bien cimentada en datos obtenidos en el laboratorio con animales de experimentación y en datos epidemiológicos y clínicos. A este respecto, podemos mencionar que los cambios bioquímicos, tales como los implicados en el aumento de la actividad del eje hipotálamo pituitario adrenal y los cambios en monoaminas cerebrales producidos por el estrés crónico se han equiparado a los encontrados en trastornos como la depresión (Ayensu y cols., 1995; Flugge, 1995; 1996; Flugge y cols., 1997a; 1997b; Flugge, 1999; 2000; Froger y cols., 2004; Fuchs y Flugge, 1995; Grippo y cols., 2005b; Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998; Mckitrick y cols., 1995; Ohl y Fuchs, 1998; Papp y cols., 1994b). Asimismo, se ha encontrado que el tratamiento con fármacos antidepresivos revierte o mejora la sintomatología inducida por el estrés (Czeh y cols., 2001; Dziedzicka-Wasylewska y cols., 1997; Fuchs y cols., 1996; Kubera y cols., 1998; Li y cols., 2003; Marona-Lewicka y Nichols, 1997; Papp y cols., 2002; Van Der Hart y cols., 2002). No obstante, el impacto patológico que las situaciones de estrés producen en humanos, así como los mecanismos implicados en la aparición de dichas patologías, están todavía por determinar con precisión. La utilización de tratamientos farmacológicos con un mecanismo de acción conocido y que están mostrando su eficacia clínica se convierte en una herramienta de gran utilidad que nos permite determinar con mayor precisión los mecanismos implicados en las alteraciones producidas por el estrés. Esto a su vez, revertirá en el desarrollo

de nuevos fármacos más eficaces y con un inicio de acción terapéutica más rápida.

Por otra parte, la investigación animal es una herramienta indispensable para ayudar a esclarecer diversas cuestiones relacionadas con las alteraciones producidas por el estrés; contrasta sus hallazgos con los realizados en la clínica, a la vez que supera las limitaciones experimentales y éticas que se plantean en los estudios con humanos. Investigaciones realizadas utilizando modelos animales han estudiado el impacto de diferentes estresores sobre distintos parámetros conductuales y biológicos. Los estresores empleados en muchos de estos estudios son estresores físicos, como los shocks eléctricos, el frío o el calor extremo, la inmovilidad inducida...No obstante, a la hora de estudiar los efectos del estrés tendríamos que tener en cuenta que este tipo de situaciones rara vez se presentan en humanos, ya que en la sociedad actual la inmensa mayoría de las fuentes de estrés son de origen psicosocial o psicológico. Además de la cualidad de los estímulos estresantes (físicos o psicológicos), el tiempo de exposición al estrés es otro factor importante en relación a los efectos adversos que produce, la cronicidad de la situación estresante parece ser una condición importante a la hora de causar una sintomatología de tipo depresivo o ansioso (Claes, 2004; Elliot y Eisdorfer, 1982; Holmes y Rahe, 1967; Kar y Bastia, 2006; Kendler y cols., 2003; Matheson y cols., 2006; Pflanz y Ogle, 2006). Teniendo en cuenta estos aspectos, se han desarrollado modelos de estrés social y psicológico en animales, que tratan de emular situaciones estresantes que posean una validez ecológica y etológica y a su vez mimeticen signos conductuales y biológicos que acontecen en las patologías relacionadas con el estrés en humanos. En esta línea, existen datos que señalan la importancia de los factores psicosociales, como la pugna por los recursos territoriales, el hacinamiento, el aislamiento social, o los cambios en la relación de jerarquía a la hora de producir alteraciones relacionadas con el estrés. En este contexto, se ha desarrollado el modelo de estrés social por derrota en animales, en el que los sujetos derrotados son sometidos a una confrontación diaria con un oponente dominante. Además, en este modelo, la exposición de este sujeto a un contacto sensorial permanente con el dominante (sin posibilidad de interacción física) constituye una fuente de estrés crónica e inescapable, sin

posibilidad de control sobre la misma (Flugge y cols., 1997a; 1997b; Flugge, 1999; 2000; Flugge y cols., 2004; Fuchs y Flugge, 1995; Fuchs y cols., 1996; Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva, 1994; Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998; Kudryavtseva y cols., 2004). Además de la derrota social, existen otras situaciones estresantes con potencial para provocar alteraciones y a su vez garantizan su validez ecológica. En esta línea podemos mencionar el modelo de estrés medio crónico (EMC), que utilizando diferentes estresores físicos aplicados de forma intermitente e impredecible consigue crear una situación de estrés psicológica con capacidad potencial para producir alteraciones relacionadas con el estrés (Bekris y cols., 2005; Dalla y cols., 2005; Grippo y cols., 2003; Grippo y cols., 2004a; Grippo y cols., 2005a; Grippo y cols., 2005b; Grippo y cols., 2005c; Gronli y cols., 2004; Gronli y cols., 2005; Li y cols., 2003). Así mismo, se ha argumentado que el modelo de EMC emula las situaciones de estrés cotidianas, poco intensas pero que ocasionan molestias continuas que perjudican la calidad de vida de las personas afectadas (Willner, 1997b).

El trabajo que aquí se presenta, en su conjunto, aporta una serie de datos que consideramos de interés y que contribuyen a un mejor conocimiento del fenómeno del estrés así como de los mecanismos biológicos implicados y de sus consecuencias sobre la salud. Este conocimiento puede ser de utilidad para el desarrollo de tratamientos farmacológicos cada vez más específicos, así como para el estudio de aquellas estrategias conductuales y cognitivas que sean más eficaces para reducir el impacto de los efectos del estrés.

1. EL FENÓMENO DE ESTRÉS.

El término estrés tiene su origen en el campo de la ingeniería y hace alusión a las diferentes tensiones físicas ejercidas sobre un punto determinado y a la deformación que sufre el material ante tales presiones. Ahora bien, este término fue trasladado al campo de la biología para definir un fenómeno que crea un desequilibrio fisiológico. Por lo general, el término estrés suele utilizarse para referirnos a la situación en la cual los estímulos estresantes provocan una respuesta del organismo frente a estos (Sapolsky, 2002). Desde esta perspectiva y en particular desde el campo de la psicología y la medicina se ha definido como estresor o estímulo estresante aquello que ejerce un desajuste en el organismo y por otro lado la respuesta de estrés como un fenómeno de respuesta íntegra del organismo para el restablecimiento de su equilibrio fisiológico. No obstante no todas las situaciones de estrés son negativas o nocivas para el individuo, las situaciones negativas a corto plazo pueden servir como aprendizaje para ulteriores situaciones más comprometedoras, incluso hay situaciones novedosas de carácter estresante que pueden ser percibidas como placenteras o estimulantes y provocar un impacto positivo en el desarrollo emocional e intelectual del individuo. En este caso hablaríamos del eustrés en contraposición al distrés que es el término que se le da a la respuesta del organismo ante situaciones de estrés de gran intensidad o de carácter incontrolable (Selye, 1976). Generalmente en el campo científico y más concretamente en el clínico se emplea el término estrés refiriéndose al distrés.

Remontándonos a los albores del estudio de la fisiología del estrés podemos destacar los trabajos de dos autores, el de Walter Cannon (1871-1945) y el de Hans Selye (1907-1982). Ambos investigadores aportaron ideas y datos clave sobre el concepto y la fisiología de la respuesta de estrés. La primera de las aportaciones por orden cronológico fue la de Walter Cannon. Este autor se centró en los mecanismos adaptativos del organismo. Para ello introdujo el término “homeóstasis” para referirse a los procesos fisiológicos coordinados que operan para mantener constantes la mayoría de los estados del organismo. Para Cannon

existe un equilibrio entre los distintos componentes fisiológicos del individuo y ante las desviaciones del mismo, el organismo pone en marcha una serie de mecanismos homeostáticos compensatorios para restaurar dicho equilibrio y proteger al organismo ante diversas circunstancias adversas. Así, el concepto de estrés fue descrito por vez primera como una reacción de emergencia que ayuda al organismo a movilizar energía para preparar una respuesta de lucha o huida ante una situación de peligro (Cannon, 1929). Cannon enfatizó la importancia del sistema simpático y descubrió que ante un evento estresante la médula adrenal segrega dos hormonas, la adrenalina y la noradrenalina.

Hans Selye se interesó por la problemática del estrés, considerándolo no solo como un proceso fisiológico de adaptación, sino también como un fenómeno que prolongado en el tiempo, puede acabar produciendo enfermedad. Selye, a lo largo de sus experimentos, descubrió que ante una situación de estrés la corteza adrenal libera glucocorticoides a la circulación sanguínea (Selye, 1936). También desarrolló un nuevo concepto que denominó “síndrome general de adaptación”, en el cual distinguió 3 fases: la primera, reacción de alarma, la segunda fase de resistencia y la tercera fase de agotamiento. En la primera fase se da una respuesta fisiológica rápida y enérgica ante la amenaza, liberándose adrenalina y noradrenalina a la circulación sanguínea. En la segunda fase, si la situación amenazante persiste, el objetivo del organismo es asegurarse una distribución paulatina de los recursos para que estos no se agoten y poder seguir haciendo frente a la situación amenazante. En esta fase, la respuesta fisiológica predominante es la liberación de los glucocorticoides al flujo sanguíneo, a la vez que el organismo inhibe los procesos que no son inmediatamente necesarios para la supervivencia. La tercera fase se produce cuando la situación estresante tiene cierta magnitud y se prolonga en el tiempo, perdiéndose la capacidad de adaptación del organismo. Esto conllevaría a la aparición de enfermedades que Selye denominó como “enfermedades de la adaptación”.

De esta manera, a partir de los descubrimientos de Cannon y Selye, a las glándulas adrenales se les atribuyó un papel clave en la respuesta fisiológica de estrés. Los dos autores además coincidían en la idea de que la respuesta fisiológica de estrés no es específica, esto quiere decir que cualquier tipo de situación

estresante, sea física, psicológica o social, genera el mismo tipo de respuesta fisiológica y el parámetro que variaría sería la magnitud de ésta.

Más recientemente surge un concepto clave para el entendimiento de la relación entre el estrés y la enfermedad y es el de “alostasis” (McEwen y Stellar, 1993; Sterling y Eyer, 1988), entendido como un proceso de reajuste fisiológico ante la situación de estrés con el objetivo de conseguir el retorno a su homeostasis (McEwen y Wingfield, 2003). Este continuo reajuste ante situaciones adversas supone un desgaste para el individuo, fenómeno que se ha denominado “carga alostática”. McEwen y otros autores proponen que la misma respuesta capaz de aportar energía al sujeto para poder hacer frente a la situación de estrés, puede ser tan perjudicial como la amenaza en sí misma, bien porque se mantienen niveles elevados y prolongados de estrés o porque los sistemas hormonales no son eficaces activando y desactivando la respuesta de estrés. De esta manera el organismo no consigue restablecer la homeostasis de una forma más o menos rápida y eficaz, llegando a descompensarse y a producir una reducción de la capacidad de resistencia del individuo, haciéndolo más susceptible a padecer enfermedades (Korte y cols., 2005; McEwen, 2000; McEwen y Wingfield, 2003). Estas enfermedades pueden ser de distinta índole e implicar alteraciones de diferentes sistemas orgánicos. Por ejemplo, ante las situaciones de estrés crónicas la función metabólica se ve constantemente acelerada y se dificulta el almacenamiento de energía produciendo fatiga, debilidad y dando lugar finalmente a problemas musculares. La activación continua de la respuesta cardiovascular produce una aceleración de la tasa cardíaca, causando hipertensión crónica y consecuentemente aumentando el riesgo de accidentes cardiovasculares. La actividad del sistema digestivo no es prioritaria en la fase de la respuesta de estrés, alterando la digestión y facilitando el desarrollo de úlceras gástricas. Así mismo, la fisiología de la reproducción y la conducta reproductora se ve dificultada por una serie de interacciones hormonales y neurovegetativas en respuesta al estrés: impotencia en el caso de los machos e inhibición de la ovulación e incluso amenorrea en el caso de las hembras. También se pueden ver afectadas otras funciones como el crecimiento, la reparación de los tejidos, o la calcificación ósea. Por otra parte, la supresión de las funciones inmunológicas que suele causar el estrés, se ha asociado con una mayor susceptibilidad a

desarrollar infecciones y enfermedades como el cáncer. Los efectos nocivos de la respuesta de estrés crónica también pueden observarse en el cerebro produciéndose alteraciones en la sinaptogénesis neural, que pueden llegar a provocar una disminución de la capacidad del aprendizaje y la memoria u otras alteraciones cognitivas, así como trastornos emocionales, tales como la ansiedad o la depresión en los sujetos afectados.

De esta forma, todos los seres vivos son susceptibles de ver amenazada su integridad física ante diferentes situaciones con potencial para ejercer un desajuste en su organismo. Y es ante este problema, presión adaptativa y necesidad de equilibrio constante de los organismos vivos, en el que la evolución les ha dotado de un sistema eficaz de respuesta frente a la amenaza. Esta respuesta puede ser de distinta índole, desde la respuesta fisiológica de estrés, hasta conductas de supervivencia (depredación, lucha, huida...), e incluso conductas más sofisticadas, como las dirigidas a mantener el estatus dentro de un grupo social. La importancia de este tipo de respuesta para la supervivencia ha sido claramente establecida; sin embargo, también se ha considerado su utilidad en situaciones de estrés cotidianas, a las que continuamente se enfrentan los seres humanos, y que son principalmente de tipo psicológico o social. Estas se caracterizan por continuos cambios (económicos, políticos, laborales, cambios en el seno familiar...) que requieren en la mayoría de las ocasiones una respuesta inteligente, flexible y adaptada. Ante este tipo de estresores la sobreactivación fisiológica de la respuesta de estrés no parece ser la más idónea, ya que es una respuesta que prepara más bien para la lucha o la huida y en ocasiones puede incluso interferir con un comportamiento adecuado ante tales situaciones. Sin embargo, esta sobreactivación también actúa sobre el sistema nervioso agilizando la tarea cerebral. La percepción sensorial se facilita y se ha propuesto que ciertas capacidades cognitivas relacionadas con la memoria de datos relevantes para resolver la situación, o tomar y ejecutar soluciones, mejoran notablemente (Sandi y cols., 1997; Sandi, 1998). De acuerdo con esto, se ha propuesto que el estrés actuaría como un mecanismo promotor de cambios en la estructura y funcionamiento del cerebro. A través de una acción cerebral, el estrés facilita la ampliación del repertorio conductual de los sujetos para hacer frente a un mundo externo en continuo cambio. La respuesta de estrés actuaría como un detonante

para la producción de modificaciones adaptativas en la estructura y funcionamiento del cerebro, facilitando así el ajuste a las nuevas circunstancias (Huether, 1996).

Dentro del estudio del fenómeno del estrés, hoy en día es conocido que existen notables diferencias individuales en la respuesta de los sujetos ante un mismo estresor. Las variables psicológicas ejercen un papel fundamental en este proceso. El proceso psicológico básico para entender y predecir la respuesta de estrés de un individuo ante un estresor será la percepción y valoración cognitiva de la situación que éste lleve a cabo. El modo en que los factores psicológicos pueden modular la respuesta de estrés es muy diverso. Se ha demostrado que variables como la falta de control del estímulo estresante, la falta de predicción de éste o la ausencia de vías de escape para la frustración, entre otras, modulan la respuesta fisiológica de estrés (Dantzer, 2001) e influyen en las posibles consecuencias patológicas que produce el estrés.

2. LA RESPUESTA NEUROFISIOLÓGICA DE ESTRÉS.

En términos generales, cuando un evento es percibido como potencialmente peligroso por el cerebro de un animal, comienza una reacción que comprende una serie de cambios, tanto conductuales como neurofisiológicos, y que tiene como objetivo primordial la minimización de los efectos potencialmente perniciosos y la recuperación de la homeóstasis. La respuesta neurofisiológica de estrés está enfocada a cubrir las necesidades de un organismo que debe hacer frente a un evento estresante y el principal requerimiento es, desde luego, energético. Cuando un animal ve su vida amenazada, por ejemplo, por el ataque de un depredador, el orden de prioridades de su organismo es claro: primero la supervivencia inmediata. La apuesta es de todo o nada y hay que movilizar todos los recursos para hacer frente al peligro. Así, una vez que el cerebro ha recibido la información sensorial, si ésta es evaluada como una situación amenazante, o estresante, se desencadena una respuesta neuroquímica, fisiológica y conductual que es modulada por el sistema límbico. La activación de los sistemas noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico cerebrales es crucial en la respuesta de estrés. Por otra parte, de entre las estructuras del sistema límbico, el hipotálamo es la estructura neural que integra la respuesta autónoma y neuroendocrina principalmente a través de dos sistemas, por una parte el sistema simpático-adrenomedular (SAM) y por otra parte el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) (McEwen, 1995; Sapolsky, 1992; 2002). También se ha propuesto un tercer eje denominado eje hipotálamo-pituitario-gonadal (HPG) (Mazur, 1985; Mazur y Booth, 1998; Ursin y Olf, 1993a; 1993b). De esta manera, a través de estas vías, se activan sistemas que movilizan toda la energía disponible y a su vez se inhiben los sistemas que no son prioritarios para la supervivencia inmediata del individuo.

El sistema monoaminérgico y la respuesta de estrés.

Los estudios acerca de la implicación de los diferentes neurotransmisores en el control de la respuesta de estrés han aportado múltiples datos aunque todavía los mecanismos de los estímulos estresantes dentro del sistema nervioso central no son bien conocidos. La activación de las proyecciones noradrenérgicas a la corteza frontal, a la amígdala, a los núcleos hipotalámicos y a otras regiones límbicas, tienen un efecto potenciador en la generación del miedo ante una situación de amenaza y también en la activación del eje HPA. El encargado de esta activación es principalmente el núcleo del *locus coeruleus* en el tronco cerebral, que es un componente crítico en el sistema de alerta y vigilancia cerebral (Charney, 2004). Además existe una conexión recíproca entre las células noradrenérgicas del núcleo del *locus coeruleus* y las neuronas parvocelulares secretoras de factor liberador de corticotropina (CRF) del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo (Habib y cols., 2001), ambos núcleos se estimulan mutuamente y responden de forma similar a los neurotransmisores, ambos son estimulados por la serotonina y la acetilcolina e inhibidos por opiáceos, GABA y glucocorticoides (Vermetten y Bremner, 2002). Las situaciones de amenaza activan el sistema noradrenérgico-*locus coeruleus* aumentando la atención, la vigilancia y la reactividad a los estímulos ambientales, así como el procesamiento de la información sensorial y de la respuesta motora, facilitando la respuesta conductual de lucha-huida.

Las situaciones de estrés también activan el sistema dopaminérgico. El sistema dopaminérgico se divide en varios subsistemas, dos de estos, el mesolímbico y el mesocortical, están implicados en los procesos de adaptación a las situaciones estresantes. El sistema dopaminérgico mesolímbico proyecta al núcleo accumbens y al septo desde el área tegmental ventral del mesencéfalo y está implicado en el procesamiento y condicionamiento de los estímulos reforzantes y en la motivación de las respuestas conductuales (Willner, 1983). El sistema dopaminérgico mesocortical proyecta al lóbulo frontal y está implicado en la anticipación de los sucesos, planificación de las respuestas conductuales y en la focalización de la atención (Smelik, 1987). Cabe decir que en la respuesta

de estrés el núcleo del *locus coeruleus* y el sistema autónomo activan tanto el sistema dopaminérgico mesolímbico como el mesocortical.

El sistema serotoninérgico está implicado en la respuesta de estrés a través de sus proyecciones que van desde los núcleos del rafe a áreas límbicas y a extensas áreas de la corteza cerebral. Se ha relacionado al sistema serotoninérgico con conductas de ansiedad anticipada, que tienen una función adaptativa en situaciones de alarma. Se ha sugerido que este sistema informa al sistema límbico de qué estímulos o situaciones se asocian con experiencias desagradables y está implicado en el control de las reacciones emocionales ante estas situaciones (Smelik, 1987). Además el sistema serotoninérgico tiene proyecciones al NPV del hipotálamo, ejerciendo así un control positivo sobre el eje HPA y la respuesta fisiológica de estrés (Chauloff, 1993).

El sistema simpático-adrenomedular.

En el desencadenamiento de la respuesta del sistema SAM frente a una situación amenazante, participa el NPV del hipotálamo bien directamente, o bien a través del núcleo del tracto solitario y del núcleo del *locus coeruleus*, ambos en el tronco cerebral. Estos núcleos modulan mediante sus conexiones descendentes la actividad de las células nerviosas de la cadena simpática, liberando así noradrenalina sobre las células diana. Cuando la rama simpática activa la médula suprarrenal, ésta libera adrenalina y noradrenalina al flujo sanguíneo que llega así a los tejidos que la rama simpática no inerva directamente e intensifica su acción en los lugares en los que si disponen de inervación directa. De esta manera, por ejemplo, la activación de los receptores adrenérgicos en el corazón produce un aumento de la fuerza de contracción, de la frecuencia cardiaca y una vasodilatación de las arteriolas coronarias. Además la activación simpática causa la relajación de la musculatura bronquial en los pulmones, así como un incremento de la frecuencia respiratoria, lo cual permite una mejor ventilación pulmonar y, por lo tanto, un mayor aporte de oxígeno a la sangre. Por otra parte, se produce una contracción de los vasos sanguíneos en los órganos y tejidos cuya

función no es imprescindible en la respuesta inmediata de estrés. Este fenómeno permite una redistribución del flujo sanguíneo hacia los órganos que precisen mayor actividad o aporte energético. Además, también se producen cambios metabólicos que tienen como resultado la liberación de glucosa en el torrente sanguíneo aumentando la disponibilidad de ésta en órganos necesarios, como la musculatura esquelética para una respuesta más óptima al esfuerzo físico, y en el cerebro para producir una mayor atención y aumentar la capacidad de respuestas rápidas y flexibles.

El eje Hipotálamo-pituitario-adrenal.

En el desencadenamiento de la respuesta de estrés el otro sistema efector que trabaja conjuntamente con el sistema SAM es el eje Hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA). El NPV del hipotálamo sintetiza un péptido, el CRF, que es liberado en la adenohipófisis y estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y de la β -endorfina. La activación de las células parvocelulares del NPV del hipotálamo aumenta también la síntesis y liberación de arginina-vasopresina (AVP), la cual refuerza los efectos de la CRF (Tafet y Bernardini, 2003). Una vez segregada la ACTH a la circulación sanguínea esta llega a la corteza de la glándula adrenal y estimula la secreción de glucocorticoides. Durante el estrés, el incremento en la liberación de CRF ocurre en unos pocos segundos, de ACTH en unos 15 segundos y de glucocorticoides en unos pocos minutos. De esta manera, el eje HPA se sirve en su tarea de los glucocorticoides, fundamentalmente del cortisol en el caso de los seres humanos y otros primates; y de la corticosterona en el caso de las ratas y ratones (Sapolsky, 1992).

Los glucocorticoides son hormonas esteroides que producen modificaciones en el metabolismo de la glucosa, incrementando el nivel de ésta en sangre. En concentraciones elevadas poseen un marcado efecto anti-inflamatorio, reduciendo la respuesta corporal a las lesiones tisulares, también inhiben la secreción de la hormona del crecimiento (GH) y la somatomedina y aceleran la degradación de proteínas (Rosenzweig y Leiman, 1992; Sapolsky, 1992). Los glucocorticoides además intervienen en los procesos de aprendizaje y memoria

(Sandi y cols., 1997; Sandi, 1998). En definitiva, la acción de los glucocorticoides ayuda al organismo a responder a las exigencias de las condiciones ambientales, preparándolo para demandas específicas a corto plazo (Rotenberg y cols., 1996).

El eje hipotálamo-pituitario-gonadal.

Para entender mejor el efecto que induce el estrés sobre el eje hipotálamo-pituitario-gonadal (HPG) hay que tener en cuenta que la reproducción es uno de los fenómenos fisiológicos que más costes conllevan para el organismo, sobre todo para las hembras que se encargan de la gestación de las futuras crías. En condiciones estables en el núcleo arcuato del hipotálamo se libera el factor liberador de hormonas gonadotrópicas (GnRF) que estimula la secreción de gonadotropinas, hormona estimulante de los folículos (FSH) y hormona luteneizante (LH) desde la adenohipófisis. La cantidad y patrón de liberación de estas dos hormonas dirigen la actividad gonadal, incluida la producción de los esteroides gonadales, de las cuales la hormona predominante en las hembras es el estradiol y en los machos es la testosterona (Worthman, 1999).

En situaciones de estrés tanto el CRF como la β -endorfina inhiben la secreción de GnRF. Además, ante una situación de estrés intensa se libera gran cantidad de prolactina en la adenohipófisis, que disminuye la acción de la GnRF, con la consiguiente disminución de la secreción de LH y FSH. Los glucocorticoides por su parte también inhiben la liberación de GnRF hipotalámica, también de LH y FSH en la adenohipófisis, además de inhibir la sensibilidad a la LH en los ovarios o testículos. Todas estas acciones dan como resultado una inhibición de los mecanismos relacionados con la conducta sexual y la reproducción (Sapolsky y cols., 2000; Sapolsky, 2002; Torpy y Chrousos, 1996).

Como podemos observar la respuesta neuroquímica y fisiológica de estrés esta integrada por múltiples sistemas, regulados por el hipotálamo y otras estructuras neurales. Además es importante entender que todos los ejes y sistemas que se han comentado trabajan conjuntamente tanto en la respuesta de estrés como en el restablecimiento de la homeóstasis del organismo y que la alteración

La respuesta neurofisiológica de estrés

de uno de estos sistemas conlleva en una alteración en mayor o menor medida de los demás sistemas.

3. ESTRÉS Y SISTEMA INMUNITARIO: LA PSICONEUROINMUNOLOGÍA.

Tradicionalmente se ha aceptado la idea de que los avatares negativos de la vida influían de manera causal en el padecimiento de malestar y enfermedad por parte de las personas afectadas. No era rara la creencia general que ante la pérdida de un ser querido los familiares o personas afectadas fueran más proclives a padecer desde enfermedades de tipo sistémico hasta trastornos psicológicos, como la depresión. No obstante, en el seno de la comunidad científica no había pruebas que relacionaran de manera causal los factores psicosociales negativos con la susceptibilidad a la enfermedad. Ahora mirando hacia atrás se puede mencionar un trabajo clave que suscitó el comienzo de toda una nueva línea de investigación, la Psiconeuroinmunología. Este trabajo es el de Robert Ader y Nicholas Cohen (1975). Demostraron que la respuesta inmunitaria es susceptible de ser condicionada. Las ratas se inmunodeprimían y enfermaban cuando se les administraba sacarina (estimulo condicionado) tras la previa exposición emparejada a un fármaco inmunosupresor (ciclofosfamida, estímulo incondicionado) (Ader y Cohen, 1975). En un principio los resultados de esta investigación causaron escepticismo por parte de la comunidad científica, pero hubo algunos investigadores que indagaron en los mecanismos que podrían estar mediando entre las situaciones de estrés y la respuesta inmunitaria. Durante mucho tiempo el sistema inmune fue considerado como un sistema de defensa, en cierta forma autónomo, que se autorregulaba y que su funcionamiento era independiente del sistema nervioso. Pero, a raíz del trabajo de Ader y Cohen (1975) se han ido acumulando evidencias que han puesto de manifiesto las complejas interacciones entre el sistema nervioso, el sistema endocrino, el sistema inmunitario y la conducta (Ader y cols., 1991; Ader y cols., 1995; Schedlowsky y Tewes, 1999). Así, la Psiconeuroinmunología, dedicada al estudio de estas relaciones, se presenta como una disciplina con identidad propia, cuyas investigaciones muestran la existencia de una regulación nerviosa y endocrina de las respuestas del sistema inmunitario y viceversa, que las respuestas defensivas del sistema inmunitario pueden afectar la actividad del sistema nervioso y del sistema endocrino. Igualmente, existe amplia evidencia de que los factores

psicológicos y conductuales pueden afectar al sistema inmunitario y que éste es capaz de modular la conducta. Pero antes de comenzar a hablar de estas vías bidireccionales haremos una breve descripción del sistema inmunitario.

3.1. EL SISTEMA INMUNITARIO.

El sistema inmunitario es una compleja red de órganos y de células específicas que tienen la capacidad de reconocer, luchar contra y suprimir agentes extraños (antígenos), tales como virus, bacterias, hongos, parásitos o procesos neoplásicos, mientras que reconoce y respeta los tejidos propios sanos. La distinción entre “lo propio” y “lo ajeno” por parte del sistema inmune, se basa en la capacidad de reconocimiento de un grupo de moléculas, que se expresa en la superficie de todas las células del organismo y que, en conjunto, recibe el nombre de Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), protegiendo al organismo de la acción inmunológica de su propio sistema de defensa. A fin de protegerse frente a los antígenos, el huésped utiliza las células leucocíticas o también denominadas células blancas, además de factores solubles. Estas células circulan a través del torrente sanguíneo y del sistema linfático o en algunos casos, se encuentran fijadas a tejidos específicos.

Para poder entender mejor el funcionamiento del sistema inmune podemos tomar en consideración el tipo de respuesta emitida ante los antígenos. Ésta podría clasificarse en dos respuestas generales: inmunidad innata e inmunidad adaptativa.

LA INMUNIDAD INNATA.

La inmunidad innata o también denominada inmunidad natural o inespecífica, representa la primera línea de defensa contra los agentes extraños o microorganismos una vez que éstos han conseguido penetrar la barrera natural de la piel, tracto respiratorio o tracto intestinal del huésped. Las características que definen a la inmunidad innata son: su acción de tipo local, la celeridad de respuesta, la no especificidad ante los antígenos y no poseer memoria inmunológica. Este tipo de respuesta inmunitaria opera para restringir y aplacar la infección y el daño en los tejidos en el mismo lugar y desde el mismo instante (el inicio de la defensa ocurre en unos pocos minutos) en el que se ha efectuado el

daño o donde el antígeno ha conseguido penetrar. Además, no tiene capacidad para discriminar diferentes agentes infecciosos y no responde más rápido la segunda vez o las sucesivas veces que penetran los mismos antígenos al organismo. La inmunidad innata media en la respuesta inflamatoria, en la cual se produce la migración y acumulación de las moléculas solubles y de los agentes celulares desde la circulación sanguínea hasta el tejido infectado. La acción molecular transcurre a través de la vía alternativa del complemento, que consiste en un conjunto de proteínas que circulan por la sangre. Estas proteínas se activan cuando reconocen en el tejido celular o en las membranas de las bacterias estructuras poliméricas que corresponden a moléculas típicas que portan las bacterias y las células infectadas por virus. La activación del complemento es importante en la respuesta inflamatoria y media en la quimiotaxis, el aumento de la fagocitosis y la opsonización (recubrimiento) de las células infectadas o bacteriales, llevando a la destrucción de las células por perforación de su membrana.

Además del complemento, los agentes celulares implicados en la respuesta inmunitaria inespecífica son denominados células inflamatorias porque median en dicha reacción, e incluye a las células fagocíticas mononucleares, a los macrófagos, y a los granulocitos o células polimorfonucleares (neutrófilos y eosinófilos). Estos agentes capturan a los microorganismos e incluso a las células que han sido infectadas y los digieren de manera rápida y eficaz. Otras células también inflamatorias como los mastocitos en tejido o los polimorfonucleares basófilos en sangre, son capaces de liberar aminas vasoactivas, como la histamina e iniciar así reacciones inflamatorias ante la presencia de antígenos en el huésped. Además la Interleucina-1 (IL-1) y el Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) liberadas por los macrófagos ante la detección de un agente invasor provoca la migración de granulocitos a la zona infectada.

Otro grupo de células también implicadas en la respuesta innata son las NK (Natural Killers). Estas son un tipo de células linfocíticas inespecíficas que reconocen ciertos componentes, como glucoproteínas, que portan en su membrana las células afectadas (células tumorales o infectadas por determinados virus). Además, las células infectadas liberan interferones que provocan la activación de las NK y aumentan su citotoxicidad. Ante la presencia de antígenos

y células infectadas las NK liberan sus gránulos llenos de enzimas al espacio intercelular (como la perforina) acabando con las células afectadas o con los agentes extraños.

LA INMUNIDAD ESPECÍFICA.

La inmunidad específica también denominada inmunidad adaptativa o adquirida, podría decirse que constituye una segunda línea de defensa y se activa una vez que la primera línea, la inmunidad innata, ha sido superada. La inmunidad específica está basada en la proliferación y diferenciación de células inmunes específicas para un antígeno en concreto. Además la inmunidad específica cuenta con la denominada “memoria inmunológica”, en la cual se da una respuesta inmunitaria más rápida ante posteriores invasiones del mismo antígeno. En general cuando se habla de este tipo de respuesta más compleja, se consideran a los linfocitos B y T como los agentes celulares principales. Los linfocitos B son las células responsables de la denominada “inmunidad humoral” mientras que los linfocitos T se encargan de la “inmunidad celular”.

LA INMUNIDAD HUMORAL.

Dado que los agentes patógenos son muy diversos y son capaces de mutaciones rápidas, el organismo ha desarrollado un mecanismo capaz de hacer frente a la gran diversidad de estos agentes. Con este fin, los organismos han desarrollado un tipo de moléculas con capacidad de adhesión a los antígenos y activación de los mecanismos fagocíticos contra estos. Estas moléculas son los denominados anticuerpos o también inmunoglobulinas que son producidos y liberados por los linfocitos B. Cada linfocito B genera un único tipo de molécula, que se une específicamente al antígeno formando el denominado “complejo antígeno-anticuerpo”. Este hecho activa a la célula B específica, la cual genera y libera mayor cantidad del mismo anticuerpo y desencadena una expansión clonal con el fin de crear mayor número de células que secreten el mismo anticuerpo.

Existen 5 tipos básicos diferentes de anticuerpos, los cuales son la Inmunoglobulina A (IgA), IgM, IgG, IgD e IgE.

Una parte de las células B activadas se desarrollarán para convertirse en “células memoria” que harán posible una respuesta inmunitaria más rápida ante ulteriores invasiones del mismo antígeno. Es decir, este mecanismo tiene “capacidad de aprendizaje” y es específico; no obstante, es muchísimo más lento que la inmunidad innata porque se estima que requiere de al menos de 3 a 5 días para que pueda darse el complejo antígeno-anticuerpo una vez el antígeno ha penetrado en el organismo (Maier y Watkins, 1998).

LA INMUNIDAD CELULAR.

Numerosos agentes patógenos que penetran en el organismo, como los virus, infectan y viven en el interior de las células del huésped para poder autorreplicarse. Los anticuerpos no alcanzan a estos antígenos intracelulares y es necesaria otra estrategia defensiva contra ellos. Los linfocitos T son los agentes encargados de esta defensa mediante la denominada inmunidad celular. Los linfocitos T solo son capaces de reconocer a los agentes extraños cuando éstos son presentados en la superficie externa de una Célula Presentadora de Antígeno (CPA) junto con una molécula del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Las CPA son células dendríticas, macrófagos y linfocitos B. Las dos primeras son células fagocíticas que forman parte también de la inmunidad innata. Estas células engullen a los antígenos inactivándolos y presentándolos en su superficie. Cuando un linfocito T con un receptor específico para el antígeno se encuentra con una CPA presentando un antígeno (o un fragmento de este) asociada a una molécula del CMH, se produce la activación del linfocito T que comienza a proliferar y éstos a ser liberados a la circulación sanguínea. Los linfocitos T liberados tienen diferentes funciones y se clasifican como linfocitos T cooperadores, citotóxicos y supresores. Las células T cooperadoras constituyen las tres cuartas partes de toda la población linfocítica T. Cuando son activados liberan gran cantidad de citocinas al espacio intercelular, los cuales regulan el crecimiento de los linfocitos B (con la consiguiente liberación de nuevas

inmunoglobulinas), potencian la acción de los macrófagos, potencian la expansión clonal de los linfocitos T citotóxicos y activan a las células T supresoras. Por otra parte, los linfocitos T citotóxicos son los agentes encargados del ataque directo contra los antígenos, uniéndose directamente a estos y liberando sustancias nocivas responsables de su eliminación. La activación de las células T supresoras ayuda a regular la respuesta inmune celular para que ésta no sea desmedida y no tenga efectos nocivos contra el propio sistema del huésped. Por otro lado, al igual que ocurre con las células B, también se desarrollan linfocitos T memoria para una respuesta más rápida en el caso de que el huésped contrajese posteriormente la misma infección. Gracias a estas células memoria (linfocitos T y B) los animales poseemos lo que se denomina memoria inmunológica, gracias a la cual las infecciones que se producen una segunda o sucesivas veces, son reducidas con mayor brevedad e intensidad.

Por último, cabe decir que los diferentes tipos de respuesta inmune no actúan de forma separada, de manera que los agentes que participan en la inmunidad innata como en la adaptativa actúan conjuntamente con el objetivo de proteger al organismo contra los agentes patógenos. Para llevar a buen término una respuesta conjunta es necesario un sistema de comunicación eficaz entre los diferentes agentes inmunitarios. En este sistema de comunicación podemos destacar a las citocinas o interleucinas que son liberadas por diferentes células, incluidos los macrófagos, monocitos, linfocitos, fibroblastos, células endoteliales y astrocitos entre otros. Las citocinas pueden clasificarse dependiendo de su estructura molecular, según el tipo de receptor al que se ligan y según su acción biológica. Entre sus múltiples funciones está la regulación del crecimiento de las poblaciones de linfocitos y la producción de la respuesta específica, la activación de la respuesta inflamatoria o la estimulación del crecimiento de células indiferenciadas de la médula ósea (Ader y cols., 2001).

3.2. RELACIONES ENTRE EL SISTEMA NERVIOSO Y EL SISTEMA INMUNITARIO: LA RESPUESTA DE ESTRÉS.

Las investigaciones en el campo de la Psiconeuroinmunología en los últimos 25 años han puesto de manifiesto las complejas relaciones existentes entre la conducta, los factores psicosociales, el sistema nervioso (SN), neuroendocrino, inmunitario (SI) y la enfermedad. Numerosas investigaciones en esta área demuestran la existencia de una comunicación entre el sistema nervioso y el sistema inmunitario a través de neurotransmisores, hormonas, neuropéptidos y citocinas (figura I1, página 29) que se ha puesto en evidencia mediante cuatro líneas de investigación fundamentalmente:

1-Estudios que han utilizado la lesión o estimulación de determinadas regiones encefálicas que causan alteraciones en la respuesta inmune (Belluardo y cols., 1990; Hefco y cols., 2004; Pezzone y cols., 1994; Wrona, 2006).

2-Investigaciones que han revelado una extensa presencia de fibras del sistema nervioso autónomo que inervan órganos linfoides primarios y secundarios (Bellinger y cols., 1988; Bellinger y cols., 1997; Felten y cols., 1985; Felten y Felten, 1988; Felten y cols., 1988).

3-Trabajos que se han centrado en la influencia de numerosas hormonas de origen central, principalmente hipotalámico-hipofisiarias, que ejercen un importante papel regulador en el sistema inmunitario (Bernton y cols., 1988; Blalock y Smith, 1980; Blalock y cols., 1985a; Blalock y cols., 1985b; Carr y cols., 1996; Marx, 1995; Sheridan, 2003), así como en la expresión de numerosos receptores para estas hormonas en las células inmunitarias (Ganea y cols., 2003; Webster y cols., 1990; Webster y cols., 1997).

4-Estudios que han aportado evidencias de que las citocinas liberadas por las células inmunitarias presentan actividad neuroendocrina capaz de influir en diversas funciones nerviosas activando mecanismos de respuesta íntegra, así

como, de retroalimentación inhibitoria para su propia regulación (Anisman y cols., 2002; De La Garza Ii, 2005; Dunn y cols., 2005; Kent y cols., 1992; Konsman y cols., 2002; Licinio y cols., 1998).

Los estudios sobre lesiones o estimulación de diferentes zonas cerebrales muestran evidencias de la relación existente entre el SN-SI. Las zonas cerebrales más estudiadas son áreas del sistema límbico y diferentes núcleos hipotalámicos y la técnica mas empleada es la lesión por ablación electrolítica. La lesión de estas zonas cerebrales en general provoca una disminución de la capacidad de la respuesta inmunitaria, manifestada por una disminución de la capacidad citotóxica de las células NK, disminución de la capacidad fagocítica de los neutrófilos, disminución de la capacidad proliferativa de los linfocitos T ante la estimulación con mitógenos, supresión blastogénica de los linfocitos y aceleración del crecimiento tumoral (Belluardo y cols., 1990; Hara, 1986; Hefco y cols., 2004; Pezzone y cols., 1994; Wrona, 2006). Sin embargo, no siempre se observa una disminución de la respuesta inmunitaria tras la lesión (Wrona y cols., 2003).

Por otra parte, son numerosos los trabajos que han revelado una extensa presencia de fibras nerviosas del sistema autónomo, tanto en los órganos linfoides primarios (médula ósea y timo) como en los secundarios (bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide asociado a las mucosas) (Felten y cols., 1985; Felten y cols., 1987; Felten y Felten, 1988; Felten, 1993; Felten y cols., 1988; Maier y cols., 1994). Estas fibras nerviosas son en su mayoría noradrenérgicas y pertenecen al sistema simpático. Ante una situación de estrés el sistema simpático es activado liberando noradrenalina directamente sobre los órganos linfoides inervados, uniéndose a receptores específicos de las células linfocíticas. Además, en situaciones de estrés la inervación simpática de la médula adrenal produce una liberación de catecolaminas que pueden actuar sobre los receptores de las células linfocíticas, ya que los linfocitos expresan receptores adrenérgicos específicos del tipo α_2 y β_2 (Aarons y Molinoff, 1982; Bidart y cols., 1983; Motulsky y Iinsel, 1982) (figura II, página 29). Existen trabajos que han tratado de esclarecer los efectos de la noradrenalina sobre las células inmunitarias; así, se ha observado que la

incubación de células mononucleares con adrenalina disminuye la capacidad de fagocitosis de estas (Bermudz y cols., 1990), también inhibe la producción de TNF- α en las primeras horas, mientras que produce un aumento de la producción de la citocina tras 24 horas (Van Der Poll y cols., 1996). La importancia de este hecho estriba en que las células inmunitarias proliferan y se diferencian en un entorno cuya composición depende en parte de la actividad del sistema nervioso simpático (Dantzer, 2001).

Existen evidencias de que las sustancias de origen central liberadas cuando el cerebro interpreta una situación como amenazante ejercen un papel regulador del SI (Riley, 1981; Weigent y Blalock, 1990; Weigent y cols., 1990). A través de la interacción ligando-receptor estas sustancias pueden afectar a diversos procesos de la respuesta inmunitaria, tales como el desarrollo y diferenciación celular, proliferación linfocítica, migración celular, liberación de interleucinas y expresión de receptores para estas. Así, se ha encontrado que las células inmunitarias expresan receptores no solo para monoaminas, si no que también para el CRF, ACTH, cortisol, β -endorfina, metionina-enkefalina, leucina-enkefalina, neurotensina, sustancia P, colecistocinina, péptido intestinal vasoactivo (VIP), prolactina (PRL), supresina, somatostatina, hormona estimulante de la glándula tiroides (TSH) y hormonas gonadales (Delgado, 2003; Ganea y cols., 2003; Liebmann y cols., 1997; Yada y cols., 2004). Hay que señalar que numerosas investigaciones han puesto de manifiesto la importancia de la relación entre el estrés y los diferentes componentes del eje HPA y del sistema inmunitario (Anisman y cols., 1996; Besedovsky y cols., 1975; Besedovsky y cols., 1986; Besedovsky y Del Rey, 1988; Daynes y cols., 1995) (figura I1, página 29). Se ha encontrado que la administración continua de CRF intraventricular disminuye la capacidad proliferativa de los linfocitos T y B ante la estimulación con mitógenos. La CRF también induce a un aumento de los niveles de ARNm de la IL-1 de las células esplénicas (Labeur y cols., 1995). La incubación de células leucocíticas con ACTH provoca una disminución de la producción de citocinas (Heijnen y cols., 1991). Los efectos de los glucocorticoides sobre el sistema inmunitario son numerosos y aunque hay estudios que indican que sus efectos no son meramente inmunosupresores (McEwen, 1998; Ramirez y cols., 1996; Wilckens y De Rijk,

1997), existe un consenso generalizado acerca de su capacidad inhibidora sobre el sistema inmunitario. Entre los efectos de los glucocorticoides es muy conocido su efecto anti-inflamatorio utilizado en la práctica médica desde hace bastante tiempo (Hench y cols., 1949). Los glucocorticoides se emplean también para la supresión de la respuesta inmunitaria patológica asociada a la autoinmunidad, o para inhibir el rechazo de tejidos en los trasplantes de órganos (Cohn, 1997). Tanto en animales como en humanos un tratamiento continuo de glucocorticoides induce una supresión inmunitaria tanto a nivel humoral como celular inhibiendo también la síntesis y producción de citocinas necesarias para la comunicación inmunitaria. Así, se ha observado que los glucocorticoides pueden alterar la transcripción de numerosos genes responsables de la síntesis de diversas citocinas, como la IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, TNF- α e IFN- γ y el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (Auphan y cols., 1995). También pueden inhibir la respuesta de los linfocitos ante la estimulación antigénica o mitogénica (Calvano y cols., 1982) y disminuir la función de los linfocitos T citotóxicos (Fernandes y cols., 1975). También pueden inhibir la formación de anticuerpos o la respuesta producida por los mismos (Del Rey y cols., 1984; Friedman y cols., 1996). Además, los glucocorticoides pueden bloquear la maduración de los linfocitos en el bazo y expulsar a los ya activos del torrente sanguíneo e incluso pueden destruirlos, activando los mecanismos de apoptosis celular (Sapolsky, 2002). Los glucocorticoides también afectan a otros componentes del sistema inmunitario, de esta forma se ha observado que pueden suprimir la función de los macrófagos, al igual que la diferenciación celular de estos (Baybutt y Holsboer, 1990) y se ha observado que inhiben la actividad de las células NK (Gatti y cols., 1987).

Es importante señalar que además de la modulación de la actividad inmunitaria vía sistema nervioso, existe otra vía de comunicación, mediante la cual el sistema inmunitario envía información al sistema nervioso central, para que este module la respuesta tanto nerviosa, neuroendocrina, como conductual. En esta vía de comunicación tienen especial relevancia las citocinas o interleucinas. Estas presentan la capacidad de inducir cambios fisiológicos y conductuales mediante la modulación de la actividad del sistema nervioso,

además de autoregular la respuesta inmunitaria. El sistema inmunitario en condiciones normales trabaja constantemente eliminando cualquier antígeno o sustancia nociva para nuestro organismo. Sin embargo, cuando la respuesta del sistema inmunitario adquiere una dimensión suficientemente amplia, las citocinas liberadas comunican al sistema nervioso de dicha activación y este responde produciendo un conjunto de síntomas que se han denominado conducta de enfermedad. Entre estos síntomas se observan pérdida del apetito, malestar, fatiga, insomnio, irritabilidad, disminución de la actividad motora, disminución de la conducta sexual, menor capacidad cognitiva, apatía y disminución de la actividad social (De La Garza Ii, 2005; Dunn y cols., 2005; Kent y cols., 1992; Koonsman y cols., 2002). Aunque estos síntomas han sido habitualmente interpretados como resultado de una disminución de la resistencia que sufre el organismo durante la enfermedad, datos recientes han demostrado que representan una respuesta de estrés adaptativa desencadenada por la infección (Dantzer, 2001), ya que tiene el objetivo de ahorrar energía, inhibiendo la conducta activa y dirigiendo toda la energía contra los agentes patógenos (Maier, 2003). Los cambios fisiológicos y conductuales que acontecen en el estado de enfermedad son dirigidos por el sistema nervioso, pero para ello es necesaria la participación conjunta del sistema inmunitario. De esta manera, hay autores que entienden el sistema inmunitario como un órgano sensorial interno y presente por todo el organismo, que informa al sistema nervioso del estado del medio interno (Besedovsky y Del Rey, 1996; 2002; Dantzer y cols., 2001; Kelley y cols., 2003; Miller, 2003) (figura I1, página 29).

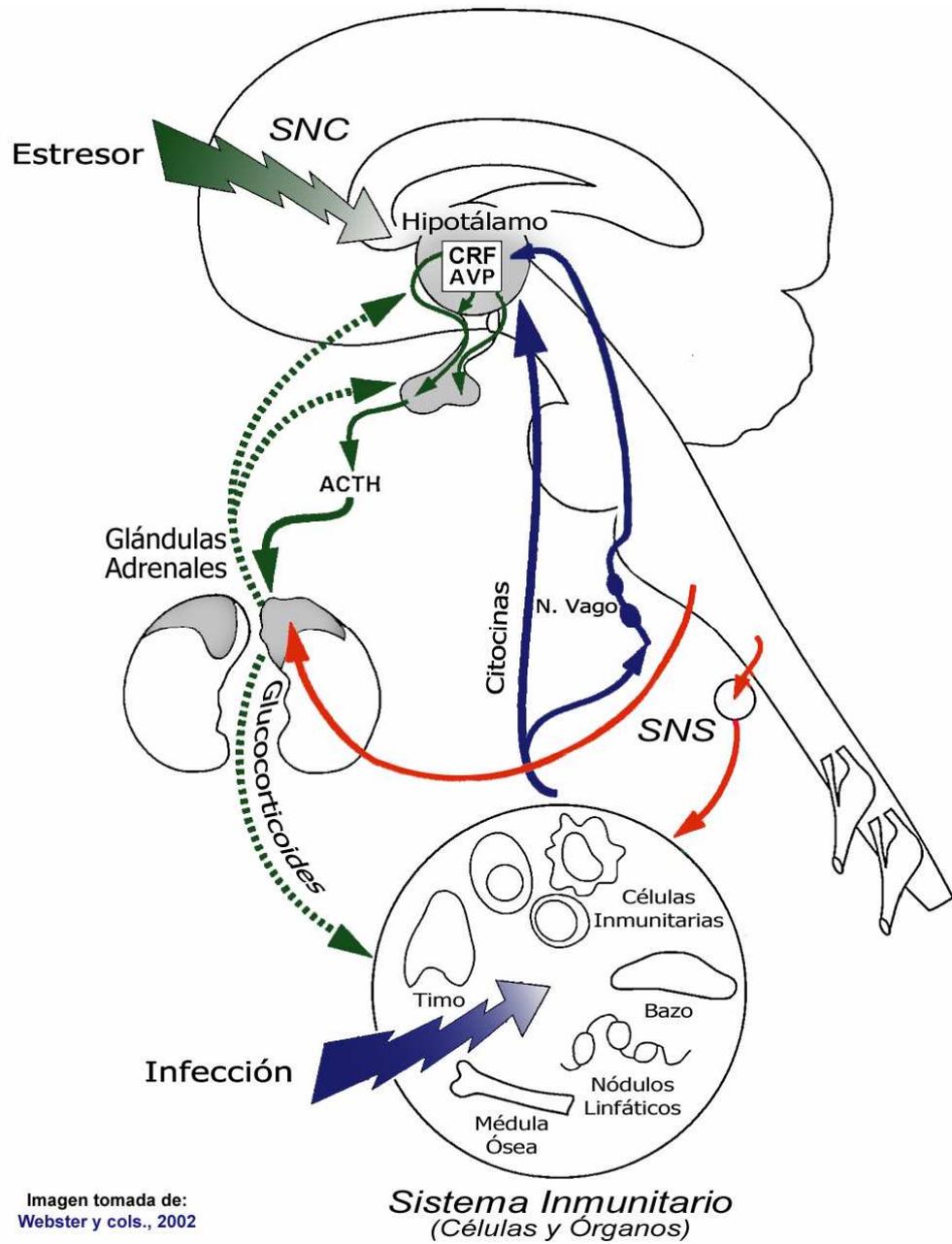


Figura I1. Representación esquemática de las principales vías de comunicación entre el SNC y el SI, incluyendo el eje HPA (en verde), el sistema SAM (en rojo) y el circuito de retroalimentación al cerebro, a través de las citocinas (en azul).

4. ESTRÉS Y ALTERACIONES ASOCIADAS.

Sabemos que la respuesta de estrés es necesaria y positiva para poder hacer frente a las amenazas y a las demandas del medio en el que vivimos los individuos. Sin embargo, cuando un individuo se enfrenta durante largo tiempo a una situación de estrés, o con demasiada frecuencia y de forma impredecible, el estímulo estresante puede llegar a ser traumático. En estas situaciones, la respuesta de estrés se mantendrá activa de forma continua y supondrá un desgaste para el organismo o carga alostática (Korte y cols., 2005; McEwen, 2000; 2003; McEwen y Wingfield, 2003), dando lugar a una serie de efectos indeseables que pueden llegar a repercutir en mayor o menor medida en todos los sistemas del organismo. Estas alteraciones son diversas y comprometen a todas las dimensiones del individuo, como la salud física, el estado emocional, la cognición e incluso su entorno social. Se ha observado que además de las situaciones traumáticas, como los desastres naturales o la guerra, o vivencias estresantes como el divorcio o la muerte de un familiar cercano, también las situaciones de la vida cotidiana que generan estrés, influyen en el desarrollo de la enfermedad y de alteraciones emocionales como la depresión o los trastornos de ansiedad (Cherry y cols., 2006; Holmes y Rahe, 1967; Kar y Bastia, 2006; Lazarus y Cohen, 1977; Matheson y cols., 2006; Pflanz y Ogle, 2006; Sandin y cols., 2004). Así, las situaciones de estrés prolongado pueden producir cambios neuroquímicos, neuroendocrinos e inmunitarios que afecten tanto al funcionamiento como a la supervivencia neuronal, predisponiendo al desarrollo de estos trastornos.

En general, el estrés parece producir una activación de los diferentes sistemas neurotransmisores monoaminérgicos (Avgustinovich y cols., 1999; Berton y cols., 1998; Blanchard y cols., 1991; Deutch y Roth, 1990; Devoino y cols., 2003b; Thierry y cols., 1998; Tidey y Miczek, 1996; Watanabe y cols., 1995). Sin embargo, la exposición repetida a la situación de estrés puede finalmente dar lugar a una disminución de la actividad de neurotransmisores como la noradrenalina (Flugge, 1996; Flugge y cols., 1997a; 1997b; Flugge, 2000), la serotonina (Van Praag, 2004) y la dopamina (Imperato y cols., 1993).

Así, la actividad persistente del núcleo del *locus coeruleus* generada en situaciones de estrés prolongadas puede contribuir a la ansiedad crónica, miedo, memoria intrusiva e incremento del riesgo de hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Charney, 2004). De acuerdo con esto, algunos pacientes con depresión mayor, trastorno de pánico y trastorno de estrés postraumático (TEPT) muestran una actividad elevada del sistema noradrenérgico-*locus coeruleus* (Charney, 2004; Geraciotti y cols., 2001; Wong y cols., 2000). Sin embargo, una continua activación de este sistema debido al estrés podría llegar a producir un agotamiento con una disminución de los niveles de noradrenalina, tal y como se ha encontrado en algunas formas de depresión (Schildkraut, 1965) y tal y como sugiere la hipótesis monoaminérgica de la depresión (Bunney y Davis, 1965; Janowsky y cols., 1972; Schildkraut y Kety, 1967). Los cambios en los niveles de NA, también se han relacionado con diversos cambios en los receptores α y β -adrenérgicos cerebrales en modelos animales de estrés crónico (Flugge, 1996; Flugge y cols., 1997a; 1997b; Flugge, 2000; Papp y cols., 1994b; Papp y cols., 1994c), que son similares a los encontrados en pacientes depresivos (De Parmentier y cols., 1993; Garcia-Sevilla y cols., 1999; Litte y cols., 1993; Ordway y cols., 1994) y en víctimas de suicidio (Biegon y Israeli, 1988; Mann y cols., 1986). Por otra parte, la disminución de serotonina que causa el estrés también se ha encontrado en pacientes deprimidos y víctimas de suicidio los cuales muestran menores niveles de 5-HIAA en el líquido cefalorraquídeo que los sujetos no deprimidos (Asberg y cols., 1976; Van Praag, 1969; Van Praag y cols., 1970; Van Praag y Korf, 1971). Las evidencias que implican a la serotonina en la depresión además proceden de estudios donde se observa que la manipulación farmacológica que aumenta la serotonina mejora la depresión (Blier, 2003). El impacto del estrés crónico se manifiesta también a través de cambios en los sistemas de receptores 5-HT_{1A} y 5-HT₂ que se han relacionado con el estado depresivo y los trastornos de ansiedad (Arango y cols., 1990; Arias y cols., 2001; Avgustinovich y cols., 1999; Berton y cols., 1998; D'Haenen y cols., 1992; Flugge y cols., 1997b; Griebel, 1995; Lesch, 1991; Mckitrick y cols., 1995; Meyer y cols., 2003; Neumeister y cols., 2004; Ossowska y cols., 2001; Papp y cols., 1994b).

Aunque la dopamina no ha sido evaluada con tanto detalle como otros neurotransmisores en relación a la depresión, la actividad disminuida de este

neurotransmisor, particularmente en el área tegmental y el núcleo accumbens, se ha relacionado con episodios depresivos que se caracterizan por la presencia de anhedonia como síntoma principal. Por otra parte, también existen pruebas de un aumento en la actividad dopaminérgica en la depresión psicótica (Aberg-Wistedt y cols., 1985; Devanand y cols., 1985; Schatzberg y cols., 1985). Los datos en relación a los cambios en receptores dopaminérgicos encontrados tanto en modelos animales de estrés crónico (Dziedzicka-Wasylewska y cols., 1997; Mijster y cols., 1998; Papp y cols., 1994a; Willner y cols., 1991) como en estudios de pacientes con trastornos de depresión y ansiedad son poco consistentes (D'haenen y Bossuyt, 1994; Klimke y cols., 1999; Parsey y cols., 2001). Otros datos indican que las situaciones de estrés crónicas pueden producir una mayor sensibilidad al refuerzo que producen las drogas, mediante cambios en la actividad dopaminérgica mesolímbica, aumentando así la vulnerabilidad al abuso de las mismas (Nestler y Carlezon, 2006).

Los efectos patológicos del estrés parecen darse a través de cambios neuroquímicos que son similares a los encontrados en trastornos como la depresión. Sin embargo, tal y como reflejan las diferentes investigaciones, los datos existentes no apoyan uniformemente el papel de la disfunción monoaminérgica en este trastorno (Anguelova y cols., 2003; Mitani y cols., 2006; Stockmeier, 2003). Es posible que algunas de las inconsistencias encontradas sean reflejo de las complejas interacciones que pueden ocurrir entre los diferentes sistemas neurotransmisores implicados en la depresión. Además, la depresión es un desorden heterogéneo, y existen diferentes subtipos que pueden implicar no solo características neuroquímicas comunes, sino también cambios neuroquímicos distintivos de cada uno de ellos (Gold y Chrousos, 2002; Griffiths y cols., 2000).

Existe una gran evidencia de la alteración del eje HPA tras las situaciones de estrés crónicas, así como en los trastornos asociados al estrés, siendo la activación crónica lo que daría lugar a los efectos nocivos de la respuesta de estrés con la aparición consiguiente de procesos patológicos. De esta manera, los cambios observados en el CRF se han relacionado con el estrés crónico, la

ansiedad y la depresión (Arborelius y cols., 1999; Banki y cols., 1992; Dunn y Berridge, 1990; McEwen, 2000; Mckitrick y cols., 1995; Nemeroff y cols., 1984). Igualmente, se ha observado que los altos niveles de glucocorticoides que se producen tras una situación de estrés crónica se relacionan con el estado de miedo y las memorias traumáticas, haciendo al individuo más vulnerable al desarrollo de un estado psicopatológico (Korte, 2001). Concretamente, existen datos consistentes acerca de la hiperactividad del eje HPA que caracteriza a algunos pacientes depresivos. Así, se han encontrado niveles elevados de CRF en el líquido cefalorraquídeo de enfermos depresivos (Arato y cols., 1989; Arborelius y cols., 1999; Banki y cols., 1992; Heuser y cols., 1998; Nemeroff y cols., 1984; Wong y cols., 2000), menor respuesta de la ACTH a la administración exógena de CRF, mayor tamaño de las glándulas adrenales y resistencia al test de supresión de la dexametasona, indicativo de un fallo del feedback negativo del eje HPA a consecuencia de una hipercortisolemia crónica (Arborelius y cols., 1999; Holsboer, 2000; Nemeroff, 1996; Pariante y Miller, 2001). Además, la farmacoterapia y la terapia electroconvulsiva normalizan los altos niveles de CRF y cortisol asociados a la depresión (Heuser y cols., 1998; Nemeroff y cols., 1991).

Por otra parte, los resultados de los estudios con modelos animales de estrés no siempre muestran un incremento de glucocorticoides (Van Dijken y cols., 1992; Van Dijken y cols., 1993). Paralelamente otros estudios en humanos proporcionan evidencias de que las glándulas adrenales están hipoactivas en algunos trastornos relacionados con el estrés. El hipocortisolismo ha sido relacionado con el TEPT (Shalev y cols., 1996; Yehuda, 2002), pero no es exclusivo de esta enfermedad, ya que también se ha encontrado en sujetos sanos que vivieron bajo condiciones de estrés crónico (Caplan y cols., 1979; Dekaris y cols., 1993; Friedman y cols., 1963). Hasta el momento el TEPT ha sido muy poco investigado a nivel experimental y no hay una explicación satisfactoria que aclare por qué las situaciones de estrés que activan el eje HPA, en algunas personas supone una deficiencia de los niveles de cortisol asociada con el TEPT, mientras que en otras personas se expresa con altos niveles de cortisol asociados con la depresión.

En los últimos años ha aumentado el interés por el estudio de los efectos del estrés sobre la neuroplasticidad y la implicación de factores neurotróficos, tales como el BDNF. Existen múltiples datos de que las situaciones de estrés crónico producen alteraciones importantes en la formación hipocampal, causando muerte neuronal y pérdida del árbol dendrítico en neuronas piramidales del hipocampo (Sapolsky y cols., 1985; Sapolsky y cols., 1990). Los efectos del estrés parecen estar en gran parte mediados por los glucocorticoides, que potencian la acción de otros factores degenerativos, como la isquemia cerebral, la hipoglucemia o los compuestos excitotóxicos como el glutamato. En relación con esto existen datos de que muchas alteraciones cognitivas de personas en edad avanzada parecen relacionarse con daño hipocampal e hipercortisolemia (Sapolsky y cols., 1986). Además de los glucocorticoides, la existencia de un turnover alterado de serotonina en situaciones de estrés que puede provocar alteraciones en factores de crecimiento importantes para la neurogénesis, se ha propuesto como otro mecanismo degenerativo posible (Mattson y cols., 2004). Por otra parte, los datos indican que también la depresión se relaciona con alteraciones en la plasticidad o con daño neuronal, y que el tratamiento con antidepresivos pueden producir sus efectos terapéuticos actuando sobre mecanismos asociados a un aumento de la plasticidad y la supervivencia neuronal (Altar, 1999; Shirayama y cols., 2002).

Muchas evidencias procedentes de la investigación en la Psiconeuroinmunología sugieren que el estrés produce cambios en la actividad inmunitaria, tanto en animales como en humanos, que hacen al sujeto más vulnerable al desarrollo de enfermedades, incluidos algunos procesos neoplásicos (Biondi y Zannino, 1997; Cohen y Herbert, 1996; Kiecolt-Glaser y Glaser, 1999; Thomas y cols., 2002; Turner-Cobb y cols., 2001). Los datos muestran que diversas situaciones de estrés psicológico crónico en humanos alteran la respuesta inmunitaria (Camacho y Dimsdale, 2000; Dimitroglou y cols., 2003; Frimerman y cols., 1997; Kaur y cols., 2004; Sakami y cols., 2002; Wadee y cols., 2001). Así, por ejemplo, las personas sometidas a situaciones de estrés crónico en el trabajo y que acusan el síndrome de “burnout”, presentan mayores niveles de TNF- α indicativos de una mayor respuesta inflamatoria (Grossi y cols., 2003). La

situación de estrés generada por el divorcio se ha asociado con menor porcentaje de células CD4+ y NK (Kiecolt-Glaser y cols., 1987). El enviudamiento también ha sido asociado con el aumento de niveles de cortisol en sangre y la disminución de la capacidad citotóxica NK (Gerra y cols., 2001; Goodkin y cols., 1996; Irwin y Livnat, 1987).

En los últimos años ha surgido la hipótesis de que las interleucinas liberadas por el sistema inmunitario en situaciones de estrés, pueden producir cambios conductuales, neuroendocrinos y monoaminérgicos centrales similares a los implicados en diferentes trastornos, tales como la ansiedad y la depresión (Anisman y cols., 2003; Hayley y cols., 2003). Por otra parte, existe evidencia de que a menudo estas patologías van acompañadas de alteraciones de la función inmunitaria. Así, pacientes diagnosticados de trastorno de ansiedad sin tratamiento, mostraron una disminución de la respuesta proliferativa de los linfocitos T ante la estimulación con mitógenos (Koh y Lee, 1996). Incluso altos niveles de ansiedad no patológica se han relacionado con mayor vulnerabilidad a la enfermedad periodontal persistente (Vettore y cols., 2003). Igualmente, se han observado infecciones de herpes genitales recurrentes que van precedidas de altos niveles de ansiedad (Fawzy, 1995) y situaciones de estrés crónicas (Ehrstrom y cols., 2005). La depresión es también un factor de riesgo en la susceptibilidad a la enfermedad y las personas depresivas muestran un ratio de mortalidad dos veces mayor que la población normal (Rudisch y Nemeroff, 2003). La proporción de pacientes depresivos con enfermedades crónicas está entre un 15%-36% (Feldman y cols., 1987). También se ha observado que las personas al cuidado de familiares con Alzheimer son más propensas a padecer depresión (Crook y Miller, 1985; Leonard y Song, 1996) y muestran una disminución de la respuesta de anticuerpos ante la vacuna de la gripe (Kiecolt-Glaser y cols., 1996). Sin embargo, aunque existen datos que indican un empeoramiento de la función inmunitaria en la depresión (Biondi y Picardi, 1996; Constantino y cols., 2000; Herbert y Cohen, 1993; Irwin y cols., 1990; Kronfol y House, 1984; Krueger y cols., 1984; Maes y cols., 1992; Miller y cols., 1999; Stein y cols., 1985; Zisook y cols., 1994), todavía no se conoce bien la relación entre dicha patología y el desarrollo de enfermedades infecciosas o trastornos inflamatorios (Irwin, 2002),

Así, podemos considerar el estrés como uno de los factores de riesgo importantes en la etiología de los trastornos de ansiedad y de la depresión, además de estar relacionado con una mayor susceptibilidad a la enfermedad. Sin embargo, todavía no están claros los mecanismos a través de los cuales el estrés puede producir esas alteraciones. De esta manera, la utilización de modelos animales de estrés resulta de gran utilidad para abordar este tipo de estudios. Concretamente, dos de estos modelos, el Estrés Social y el Estrés Medio Crónico, han sido objeto de nuestra investigación y a ellos nos referiremos en los próximos apartados.

5. ESTRÉS SOCIAL.

5.1. Introducción.

En la mayoría de las especies sociales los individuos se exponen constantemente a relaciones de dominancia y sumisión que generan situaciones de conflicto social que adquieren un gran significado biológico, ya que producen marcadas diferencias en el acceso a recursos, generando situaciones de estrés que se han considerado similares a las que se dan en humanos (Henry y cols., 1993; Rohde, 2001). Así, el rango de dominancia influye en la medida en que un individuo soporta los estresores físicos y psicosociales y repercute en la vulnerabilidad individual a sufrir enfermedades relacionadas con el estrés. Ya que la mayoría de los estímulos estresantes que producen psicopatologías en humanos, tales como la ansiedad o la depresión son de naturaleza social, el estudio de las consecuencias del estrés social en modelos experimentales animales se considera de gran utilidad (Buwalda y cols., 2005). La búsqueda de estrategias de investigación que, por un lado tengan suficiente validez etológica y por otro, tengan en cuenta factores psicosociales y además, permitan una rigurosidad y el control experimental necesario, ha llevado al estudio de los fenómenos de regulación neuroinmunoendocrina implicados en las situaciones de estrés social en animales de laboratorio. En esta línea de investigación, existen también estudios que han tratado de revertir las alteraciones provocadas por el estrés social mediante el uso de tratamientos farmacológicos específicos, no solo para corroborar el estado patológico suscitado por éste y para validar la eficacia de los fármacos empleados, sino que también para aportar datos de los mecanismos implicados en las alteraciones producidas por el estrés social.

Los estudios experimentales que analizan los efectos del estrés social sobre la conducta y sobre los aspectos biológicos se llevan a cabo fundamentalmente con roedores, siendo lo más típico la utilización de ratas y ratones, aunque hay estudios realizados con otras especies, como tupayas, hamsters o también con primates en condiciones naturales o en semi-libertad. En los modelos de estrés

social, las situaciones agonísticas son el mecanismo principal por el cual la experiencia social es considerada como productora de estrés (Blanchard y cols., 2001b). La conducta agonística es un componente obvio y registrable en términos de lucha y de resultados, como victoria o derrota, que se da en la mayoría de las especies y grupos sociables estudiados. El comportamiento agonístico ritual ha evolucionado para la obtención de beneficios (jerarquía social, adquisición/mantenimiento territorial...), preservando la integridad de los individuos (Lorenz, 1967; Price, 1998). Los oponentes manifiestan gestos y acciones de amenaza pero generalmente superficiales y sin provocar heridas mortales. El final del conflicto lo marca la rendición del “perdedor”, con lo cual se establece un nuevo *estatus* social que se mantiene mediante continuas señales de superioridad e inferioridad por parte del dominante y del sumiso respectivamente.

Con el objetivo de conocer los cambios conductuales y biológicos ocasionados por el estrés social se han utilizado diferentes modelos animales de estrés social, en los cuales se emplea una exposición aguda, intermitente o crónica a uno o varios sujetos de la misma especie. Los modelos animales de estrés social van desde los modelos que utilizan colonias, hasta los que se centran en interacciones diádicas. En los trabajos que han utilizado los modelos de colonia para el estudio del estrés social, el medio físico y social varía desde cajas de estabulación estándar con varios sujetos del mismo o de ambos sexos, hasta entornos semi-naturales con sistemas de túneles y madrigueras. Este último es un modelo muy empleado que se ha denominado “sistema de madriguera visible”, desarrollado por Blanchard y colaboradores (1988), en el que los animales tienen un área exterior común, con libre disposición a agua y a comida y un sistema de túneles y madrigueras en los que los animales se guarecen pero son visibles para el investigador (Blanchard y Blanchard, 1990; Blanchard y cols., 1993; Blanchard y cols., 1995; Blanchard y cols., 1988; Blanchard y cols., 1998). Este modelo es muy útil para el estudio del estrés social, ya que las colonias de ratas alojadas en el sistema de madriguera visible muestran conductas agresivas y defensivas, entre otras, y desarrollan relaciones claras de *estatus* social de dominancia-subordinación. En los modelos de estrés social en colonia, también se

utiliza la manipulación de la estructura de un grupo social estable, mediante la introducción de un sujeto macho seleccionado como muy agresivo. Se consigue así un modelo social inestable con el consiguiente aumento de los conflictos sociales y del estrés social (Padgett y cols., 1998).

Otros modelos animales de estrés social han utilizado las interacciones diádicas, como en el caso del paradigma residente-intruso, el cual se basa en el establecimiento de un territorio por parte de un animal que lo defiende contra un macho intruso no familiar. El animal residente defiende el territorio y generalmente domina al intruso estableciéndose un *estatus* social de dominancia-subordinación. Generalmente, después de la interacción entre el residente-intruso, el intruso derrotado o sumiso es alojado en su propia caja o en un entorno protegido. No obstante, hay variantes del modelo en los que los animales sometidos a estrés social son alojados en la misma caja en la cual tienen lugar las interacciones, conviviendo así de forma continua el sujeto sumiso junto con el dominante (Cacho y cols., 2003; Fano y cols., 2001). Otra variante del paradigma residente-intruso es el modelo de estrés social con contacto sensorial, desarrollado por Kudryavtseva y colaboradores (1991) y que ha sido empleado en esta tesis doctoral, en el que los animales una vez finalizada la interacción, son alojados en la misma caja, pero separados mediante una barrera transparente agujereada, la cual permite el contacto sensorial, pudiendo olerse, oírse y verse pero impidiendo el contacto físico con el oponente (Kudryavtseva, 1991; Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva y cols., 1991b). Además de emplearse con ratones, este modelo también se ha utilizado con ratas (Berton y cols., 1998; Berton y cols., 1999; Rygula y cols., 2005) y tupayas (*tupaia belangeri*) (Fuchs y cols., 1996; Kramer y cols., 1999; Ohl y Fuchs, 1998). El modelo de estrés social con contacto sensorial surgió con el objetivo de ser un modelo animal de depresión basado en la experiencia de derrotas repetidas y del contacto sensorial ininterrumpido y crónico con el oponente dominante (Kudryavtseva, 1991; Kudryavtseva y cols., 1991a). De hecho, a este modelo también se le ha denominado “Depresión inducida por confrontación social” (Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998). La situación de estrés por contacto sensorial, una situación de estrés crónica inescapable, donde los sujetos sumisos no tienen control alguno de la situación, es un modelo de estrés que induce cambios conductuales relacionados con el

trastorno depresivo y/o la ansiedad (Avgustinovich y cols., 1997; Avgustinovich y cols., 1999; Avgustinovich y cols., 2003; Fuchs y cols., 1996; Kramer y cols., 1999; Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998; Zelena y cols., 1999). Las alteraciones del sistema catecolaminérgico y glucocorticoideo que se observan en situaciones de pérdida de control social y específicamente en la derrota social indican que son las situaciones estresantes más potentes en animales (Koolhaas y cols., 1997). Así mismo, la experiencia de derrota social repetida, la emotividad negativa crónica (miedo y estado no satisfactorio), así como los largos periodos bajo un estado de sumisión, se consideran factores etiológicos inductores de un cuadro de tipo ansioso y/o depresivo en los sujetos perdedores (Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998). Precisamente el interés de esta tesis se centra en el estudio de las posibles alteraciones que sufre el sujeto sumiso sometido a continuas derrotas.

5.2. Cambios conductuales.

El estrés social altera múltiples conductas estudiadas en diferentes situaciones, tanto en la fase de interacción social como una vez que concluye ésta. De esta forma, tras repetidas situaciones de estrés social, tanto en modelos de colonia con ratas, como en modelos de residente-intruso con contacto sensorial en ratas y ratones, los sujetos sumisos muestran una disminución de la actividad locomotora en general, disminución de la actividad exploratoria, un aumento de la conducta de inmovilidad, una reducción o desaparición de la conducta agresiva y un incremento de la evitación del área protegida por el sujeto dominante (Blanchard y cols., 1995; Blanchard y cols., 2001c; Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998; Tuma y cols., 2005). En modelos de colonia, las ratas sumisas muestran mayor conducta de ocultamiento en los lugares protegidos, así como un aumento de las conductas de “valoración del riesgo”, que implican actividades relacionadas con la recogida de información concerniente a las posibles amenazas con acercamiento cauteloso hacia el estímulo amenazante (Blanchard y cols., 1991; Blanchard y cols., 1995; Blanchard y cols., 2001c). En ratones sometidos a derrota crónica con contacto

sensorial, también se observa un aumento de la conducta de valoración de riesgo con un aumento de la conducta de espera, en la cual el ratón sumiso vigila a distancia los movimientos del ratón agresor (Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998). También se ha observado una disminución de la interacción social con otros sujetos coespecíficos tanto en ratas como en ratones derrotados, sometidos a diferentes variantes del modelo residente-intruso (Avgustinovich y cols., 1997; Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva, 1994; Meerlo y cols., 1996b). Así mismo, la derrota crónica en ratones altera la conducta manifestada a lo largo de las repetidas interacciones con el sujeto dominante, observándose una disminución paulatina de la defensa activa, de la retirada y un aumento de la defensa pasiva y de la inmovilidad. Además, se ha observado una conducta de inmovilidad especial en los derrotados, los cuales se sitúan de espaldas al dominante con la nariz en una de las esquinas de la caja, en los intervalos entre los sucesivos ataques que emite el ratón dominante, o cuando este se acerca u olfatea al ratón sumiso. Se ha sugerido que esta conducta indicaría una completa indiferencia hacia los estímulos sociales e incluso hacia el ratón agresor, tal alteración de la conducta social también se observa en la depresión humana (Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998). También se ha encontrado una disminución del tiempo invertido junto al separador en el “test de partición” en el modelo de estrés social con contacto sensorial en ratones derrotados (Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva y cols., 2004), así como en tupayas derrotadas, que muestran una tendencia a mantener una distancia lo más alejada posible del sujeto dominante (Fuchs y cols., 1996; Kramer y cols., 1999). Se ha sugerido que la disminución del tiempo invertido junto al separador en el test de partición indica una reducción de la conducta de interacción social provocada por un estado de ansiedad, suscitado por las continuas derrotas y el contacto sensorial crónico (Avgustinovich y cols., 2003; Kudryavtseva y cols., 1991a). Sin embargo, ni los agentes antidepressivos, imipramina y clomipramina, ni los ansiolíticos, ipsapirona y buspirona, mejoran la conducta en el test de partición en los animales derrotados sometidos a contacto sensorial crónico (Avgustinovich y cols., 1999; Avgustinovich y cols., 2003; Fuchs y cols., 1996; Kramer y cols., 1999; Kudryavtseva y cols., 1991a).

Otros estudios han investigado la conducta del subordinado fuera de la situación de interacción social. De esta manera, se ha observado en diferentes especies una disminución de la actividad exploratoria en el test de campo abierto, test de caja perforada, cajas de actividad o en la propia caja de los sujetos derrotados sometidos a diferentes variantes del modelo residente-intruso (Berton y cols., 1998; Fuchs y cols., 1996; Kramer y cols., 1999; Kudryavtseva y cols., 1991a; Meerlo y cols., 1996a; Meerlo y cols., 1996b; Rygula y cols., 2005). Se ha sugerido que la disminución de la actividad locomotora y exploratoria representa una pérdida del interés por una situación estimulante novedosa, generada por una mayor ansiedad (Rygula y cols., 2005). Las alteraciones en la actividad locomotora producidas por el estrés social tienen cierta similitud a las observadas en algunas personas con depresión, ya que es frecuente observar una disminución de la actividad locomotora en estas personas (López y Valdés, 2003). El tratamiento prolongado con fármacos antidepresivos, como la clomipramina, revierte la disminución de la actividad exploratoria en la propia caja en tupayas sometidas a estrés social crónico con contacto sensorial (Fuchs y cols., 1996; Kramer y cols., 1999). Existen una variedad de trabajos que indican que la derrota social induce un aumento de la ansiedad medida en el test del laberinto elevado en ratas y ratones (Avgustinovich y cols., 1997; Avgustinovich y cols., 2003; Berton y cols., 1998; Berton y cols., 1999; Haller y Halasz, 2000; Heinrichs y cols., 1992; Heinrichs y cols., 1994; Kudryavtseva y cols., 2004). El tratamiento prolongado con fármacos ansiolíticos de la familia de las azapironas, como con la ipsapirona y la buspirona produce una mejoría de la conducta en el laberinto elevado en los ratones derrotados (Avgustinovich y cols., 2003). En pruebas típicas para la valoración de la depresión animal, como en el test de Porsolt, se ha encontrado un aumento de la inmovilidad en ratas y ratones derrotados sometidos a contacto sensorial crónico (Kudryavtseva y cols., 1991a; Rygula y cols., 2005). Se ha sugerido que este resultado representa un signo de desesperación conductual que podría deberse a una alteración del sistema motivacional, alteración que es característica en la depresión humana (Rygula y cols., 2005). El tratamiento prolongado con imipramina resulta en una disminución de la inmovilidad en el test de Porsolt en ratones derrotados sometidos a contacto sensorial crónico (Kudryavtseva y cols., 1991a), hecho que

no se ha observado tras la administración prolongada de ipsapirona y buspirona (Avgustinovich y cols., 2003). También existen datos que muestran una disminución de la capacidad de memoria tras estrés social. Se ha observado una disminución de la capacidad de memoria visoespacial en el test de caja perforada en tupayas derrotadas sometidas a contacto sensorial crónico. La disminución en la capacidad de memoria se observó a las 4 semanas que duró el estrés social y 10 semanas después de haber finalizado éste (Ohl y Fuchs, 1998).

Por otra parte, se ha observado que la ingesta de agua y comida disminuye tras sucesivas derrotas en diferentes especies (Kramer y cols., 1999; Meerlo y cols., 1996b), aunque no se ha encontrado lo mismo tras una única derrota (Meerlo y cols., 1996b). La preferencia por la sacarosa disminuye en ratas derrotadas y mantenidas en contacto sensorial con el dominante a partir de la segunda semana y semanas posteriores. Resultado que indica una disminución de la respuesta al refuerzo o anhedonia, un síntoma que también se observa en la depresión humana (Rygula y cols., 2005). Sin embargo, tras una única o tras dos derrotas repetidas no se ha observado alterada la preferencia por la solución de sacarosa en ratas sometidas al modelo residente-intruso (Meerlo y cols., 1996b). También se ha observado una reducción de la conducta de autoestimulación eléctrica intracerebral (AEIC) en sujetos sumisos (Kureta y Watanabe, 1996). Así como, una disminución del condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) en los sujetos derrotados, utilizando cocaína y morfina como refuerzo (Coventry y cols., 1997; Long y cols., 1993). Sin embargo, en numerosos modelos animales se ha puesto de manifiesto que el estrés facilita el desarrollo de la conducta de autoadministración de varias drogas de abuso, aumentando probablemente la capacidad reforzadora de estas sustancias. De acuerdo con esto, los datos muestran que la exposición a situaciones de estrés social en roedores produce un aumento de la conducta de consumo de diferentes drogas de abuso, como la cocaína (Haney y cols., 1995; Mickzek y Mutschler, 1996; Tidey y Mickzek, 1997) o el etanol (Kudryavtseva y cols., 1991b).

Otros trabajos muestran que conductas como el autoaseo pueden aumentar (Tornatzky y Mickzek, 1994) o disminuir (Fuchs y cols., 1996) (Kramer y cols., 1999; Van Erp y cols., 1994) en animales derrotados. También se ha encontrado que la conducta de marcaje territorial disminuye tras la derrota

crónica en tupayas (Fuchs y cols., 1996; Kramer y cols., 1999) y que los sujetos derrotados disminuyen su investigación en el área marcada con orina por parte de un sujeto agresivo después de un enfrentamiento (Jones y Nowell, 1973). Se ha encontrado que los ratones subordinados prefieren el olor de hembras no familiares y ante el olor de un macho dominante prefieren el olor de un dominante conocido al de un dominante desconocido (Rawleigh y cols., 1993). Además, los ratones derrotados siguen mostrando un aumento de las conductas relacionadas con la valoración de riesgo ante el olor del oponente una vez ha desaparecido este (Garbe y Kemble, 1994). También se ha observado una disminución de la conducta de apareamiento (Yosimura y Kimura, 1991) y de la eyaculación espontánea en los sujetos sumisos (Huber y Bronson, 1980). Así mismo, otros estudios muestran una alteración del patrón de sueño en animales derrotados, de forma similar al que muestran los pacientes depresivos, caracterizado por un “despertar precoz” (Rüther, 1989)

5.3. Cambios neuroquímicos.

Tal y como hemos observado en el apartado anterior, el estrés social induce cambios conductuales que son revertidos por el tratamiento con agentes antidepresivos y ansiolíticos. Dado que la eficacia mostrada por estos fármacos se ha relacionado con cambios en diferentes sistemas de neurotransmisión, como el sistema serotoninérgico y el noradrenérgico entre otros, es posible que en los mecanismos subyacentes a estas alteraciones estén implicados estos sistemas. Por ello, en las próximas líneas expondremos los resultados obtenidos en diferentes investigaciones que emplean modelos animales de estrés social y los cambios neuroquímicos producidos tras el conflicto social.

La mayoría de los trabajos sobre los efectos del estrés social sobre el sistema serotoninérgico cerebral muestran una activación de este sistema. Así, las ratas y ratones subordinados muestran altos niveles del metabolito (5HIAA) de la serotonina en diferentes áreas cerebrales y un aumento del ratio 5HIAA/5HT en el cerebro medio (Avgustinovich y cols., 1999; Berton y cols., 1998; Blanchard y

cols., 1991; Devoino y cols., 2003b), núcleo acumbens (Devoino y cols., 2003b), amígdala (Blanchard y cols., 1991) e hipotálamo (Blanchard y cols., 1991; Devoino y cols., 2003b). Otros estudios indican que hamsters adultos que fueron socialmente derrotados durante su pubertad, presentan un aumento de la inervación serotoninérgica en el septo lateral y en el hipotálamo, sugiriendo que la derrota provoca un aumento de la capacidad para liberar 5HT en estas áreas cerebrales (Delville y cols., 1998). La activación serotoninérgica permanente esta relacionada con bajos niveles de agresividad y con un *status* de subordinación. De hecho, se ha encontrado que la administración de sertralina, un agente inhibidor selectivo de la recaptación de 5HT (ISRS), revierte el *status* de dominancia en animales sometidos a estrés social (Larson y Summers, 2001). También se ha observado un aumento de los niveles de proteína c-fox en el núcleo dorsal y medial del rafe, corteza prefrontal e hipotálamo en ratas sometidas a continuas derrotas cuando se compararon con los sujetos control y con ratas derrotadas pero que fueron tratadas intraventricularmente con un deplector serotoninérgico. Resultado que indica que la derrota repetida da lugar a una intensificación de la actividad serotoninérgica en dichas áreas cerebrales (Chung y cols., 1999). En este mismo sentido, otros datos muestran un aumento de la actividad de la enzima triptofano hidroxilasa (TPH) en el estriado (Amstislavkaya y Kudryavtseva, 1997) e hipotálamo (Amstislavkaya y Kudryavtseva, 1997; Avgustinovich y cols., 1999) en ratones sometidos a continuas derrotas. También se han encontrado cambios en la expresión del gen del transportador de 5-HT en diferentes áreas del cerebro (Berton y cols., 1999; Filipenko y cols., 2002a; Filipenko y cols., 2002b; Mckitrick y cols., 1995), que se han relacionado con cambios conductuales indicativos de ansiedad y depresión en los animales derrotados. Paralelamente, los pacientes que tienen una regulación a la baja de la expresión del transportador de 5HT, muestran un aumento de las conductas de miedo y ansiedad, además de mayor actividad neuronal en la amígdala en respuesta a los estímulos que causan miedo y mayor sintomatología depresiva en relación con la situación estresante (Caspi y cols., 2003; Hariri y cols., 2002).

El estrés social por derrota también causa una alteración en los receptores serotoninérgicos. Se ha encontrado una disminución de los receptores 5HT_{1A} en la corteza frontal (Avgustinovich y cols., 1999; Flugge y cols., 1997b), la amígdala

(Avgustinovich y cols., 1999) y en el hipocampo (Berton y cols., 1998; Flugge, 1995; Mckitrick y cols., 1995) en diferentes especies sometidas a diferentes periodos de tiempo y modelos de estrés social. Se ha sugerido que la regulación a la baja de los receptores 5HT_{1A} en el hipocampo de tupayas sometidas a derrota social crónica, podría ser responsable de la supresión de la neurogénesis encontrada en esta área cerebral. El tratamiento con antidepresivos previene la reducción del volumen y neurogénesis hipocampal (Czeh y cols., 2001; Jacobs y cols., 2000; Van Der Hart y cols., 2002), lo que sugiere que la pérdida de plasticidad neuronal y la disminución de la supervivencia neuronal constituyen factores clave en la fisiología patológica de la depresión en humanos (Duman y cols., 1997; Manji y cols., 2000). Por otra parte, se ha observado que los fármacos que selectivamente activan los receptores 5HT_{1A} y 5HT_{1B} reducen la agresión social en ratas en el paradigma de residente-intruso (Mickzek y cols., 1994). Además, los ratones a los que se les elimina el gen que codifica los receptores 5HT_{1B} muestran un aumento de la conducta agonística en el modelo de residente-intruso (Saudou y cols., 1994). Estos datos sugieren un aumento de la actividad de los receptores 5HT_{1B} en animales sumisos que no manifiestan una conducta agresiva contra el oponente.

Respecto a los receptores 5HT_{2A}, se ha encontrado que la derrota social repetida provoca una regulación al alza de estos receptores en la corteza cerebral (Berton y cols., 1998; Mckitrick y cols., 1995). Aunque los mecanismos responsables en la regulación de estos cambios están relacionados con una disminución de los niveles de 5HT, también parece estar implicada la corticosterona, ya que el número de receptores 5HT_{2A} varía en función de los niveles basales de corticosterona y del peso adrenal (Chaouloff, 1995; Mckitrick y cols., 1995). La estimulación de los receptores 5HT_{2A} se ha relacionado con ansiedad y aversión (Griebel, 1995). La alteración de estos receptores también se ha relacionado con la depresión, ya que se ha encontrado un aumento de los receptores 5HT_{2A} en la corteza cerebral de pacientes depresivos y víctimas suicidas (Arango y cols., 1990; Arias y cols., 2001; Meyer y cols., 2003). Se ha sugerido la hipótesis de que las situaciones de estrés crónicas, en las cuales hay una secreción crónica de glucocorticoides, provocan una intensificación de la liberación de 5-HT (e incremento de la ansiedad), lo que finalmente resultaría en

un agotamiento de las neuronas serotoninérgicas que como consecuencia produciría una regulación al alza en los receptores serotoninérgicos tal y como es característico en la depresión (Korte, 2001).

Esta secuencia de acontecimientos estaría de acuerdo con el reconocido papel de la ansiedad como factor llave en la vulnerabilidad a la depresión (Kar y Bastia, 2006; Momartin y cols., 2004; Parker y cols., 1997).

En cuanto a la relación entre el estrés social y el sistema noradrenérgico central, los datos muestran un aumento del ARNm de la tiroxina hidroxilasa (TH) y de los niveles de TH en el *locus coeruleus* tras la aplicación de un estrés social en ratas subordinadas, que refleja un aumento de la actividad neuronal noradrenérgica (Watanabe y cols., 1995). También se ha encontrado que en las fases iniciales de estrés social se da una regulación a la baja de los receptores α_2 -adrenérgicos, indicativos de un aumento de los niveles de noradrenalina, sin embargo, las situaciones de derrota crónica producen el efecto contrario (Flugge, 1996; Flugge y cols., 1997a; 1997b; Flugge, 2000). Paralelamente, los estudios *postmortem* de cerebros de pacientes depresivos muestran bajos niveles de noradrenalina junto con una regulación al alza de los receptores α_2 -adrenérgicos en diferentes áreas cerebrales (García-Sevilla y cols., 1999; Ordway y cols., 1994). Se ha sugerido que la regulación a la alza de los receptores α_2 -adrenérgicos podría estar también mediada por los glucocorticoides, los cuales se encuentran elevados tras el estrés crónico (Jhanwar-Uniyal y Leibowitz, 1986). Además, existen datos que muestran que la administración prolongada de cortisol a tupaías provoca un aumento de los lugares de ligamiento de los receptores α_2 -adrenérgicos en varias áreas cerebrales (Flugge, 1999).

Por otra parte, los animales sometidos a una experiencia de derrota crónica presentan una regulación a la baja de los receptores β -adrenérgicos en diferentes zonas cerebrales, fundamentalmente en el hipocampo y en la corteza parietal (Flugge y cols., 1997a; 1997b). Paralelamente, se ha encontrado una regulación a la baja de los receptores β_1 -adrenérgicos en la corteza frontal y temporal de víctimas suicidas (De Parmentier y cols., 1993; Litte y cols., 1993).

Pocos estudios se han centrado en la relación entre el estrés social y el sistema dopaminérgico, pero hay evidencias relativas al aumento de los niveles de dopamina (DA) y de su metabolito, DOPAC, en el núcleo accumbens y en la corteza prefrontal en respuesta a experiencias de derrota en ratas y ratones (Haney y cols., 1990; Tidey y Miczek, 1996). Este aumento de la actividad dopaminérgica se ha relacionado con la conducta de atención selectiva que muestran las ratas sumisas hacia el sujeto dominante y no con el aumento de la actividad psicomotora (Tidey y Miczek, 1996). De acuerdo con esto, se ha observado que la administración de agentes ansiógenos pueden incrementar la liberación de DA en el núcleo accumbens sin que haya aumento de la actividad locomotora (McCullough y Salamone, 1992). Este y otros trabajos sugieren una relación entre un aumento de la actividad dopaminérgica y el estado de ansiedad (Graeff y cols., 1997; Talalalenko y cols., 2001; Tidey y Miczek, 1996).

5.4. Cambios neuroendocrinos.

En relación con el estrés social y la respuesta neuroendocrina, el sistema más estudiado es el eje HPA. Existen datos que indican que no existen diferencias en los niveles de CRF en animales socialmente estresados (De Goij y cols., 1992), aunque se observa un incremento del número de receptores (Fuchs y Flugge, 1995; Veenema y cols., 2004) que vuelven a los niveles normales tras una situación de estrés social prolongada (Veenema y cols., 2004). Otros datos muestran un aumento de los niveles de ACTH en sangre tras una o varias derrotas repetidas (Heinrichs y cols., 1992; Huhman y cols., 1991; Pich y cols., 1993; Saltzman y cols., 2004; Skutela y cols., 1994), aunque no siempre se observe este aumento (De Goij y cols., 1992). El estrés social también provoca un aumento de los niveles de β -endorfina y β -lipotropina y una disminución de los niveles de prolactina en animales derrotados y subordinados (Dijkstra y cols., 1992; Huhman y cols., 1990; Huhman y cols., 1991; Huhman y cols., 1995). También se ha encontrado un aumento de los niveles de cortisol en tupayas (Fuchs y cols., 1996; Ohl y Fuchs, 1998), o de corticosterona en ratas, ratones, hamsters y cobayas tras la derrota social (Blanchard y cols., 1995; Cacho y cols., 2003;

Dijkstra y cols., 1992; Fano y cols., 2001; Huhman y cols., 1990; Huhman y cols., 1991; Fich y cols., 1993; Raab y cols., 1986; Sachser y Lick, 1991; Stark y cols., 2001; Vegas y cols., 2006). El incremento de la corticosterona provocado por la derrota social, parece depender de diferentes factores, tales como el tipo de exposición ante el sujeto dominante (cohabitación-interacciones diarias) y del número de interacciones o tiempo en cohabitación (Fano y cols., 2001). Además, el incremento de los niveles de corticosterona parece aumentar la tendencia a manifestar conductas de subordinación. Los datos indican que la administración exógena de corticosterona y ACTH producen un aumento de las conductas de subordinación en posteriores interacciones agonísticas cuando existe una experiencia previa de derrota (Leshner y Roche, 1977; Leshner, 1980; Nock y Leshner, 1976; Roche y Leshner, 1979). La disminución experimental de los niveles de corticosterona produce el efecto contrario (Nock y Leshner, 1976). Por otro lado, se ha observado que los fármacos antidepresivos revierten el aumento de los niveles de cortisol, así la administración prolongada de clomipramina normaliza los niveles de cortisol en tupayas sometidas al modelo de estrés social con contacto sensorial crónico (Fuchs y cols., 1996).

Además de los niveles de glucocorticoides, se han encontrado cambios en los receptores para estas hormonas tras situaciones de estrés social en animales subordinados. Se sabe que el hipocampo contiene un gran número de receptores glucocorticoides y existen datos que muestran una disminución del ratio entre receptores de mineralocorticoides (MC) y receptores de glucocorticoides (GC) en el hipocampo tras situaciones de estrés social (Buwalda y cols., 2001; Veenema y cols., 2003a; Veenema y cols., 2003b). Ratas sometidas a tres semanas de derrota social muestran una disminución del 56% en el ligamiento de los receptores MC (Buwalda y cols., 2001). También, se ha encontrado que la administración prolongada de cortisol causa una reducción del volumen hipocampal en tupayas. Igualmente, el estrés social crónico también redujo el volumen hipocampal de los sujetos estresados (Czeh y cols., 2001; Ohl y cols., 2000; Van Der Hart y cols., 2002). Hay constancia de que tras el estrés social por derrota, se produce una inhibición de la proliferación de células granulares en el giro dentado del hipocampo (Czeh y cols., 2001; Fuchs y Gould, 2000; Van Der Hart y cols., 2002), así como, una retracción dendrítica en las neuronas piramidales del área

CA3 del hipocampo (Magariños y cols., 1996). El tratamiento con agentes antidepresivos, como la tianeptina y la clomipramina revierte los cambios que induce el estrés social en los sujetos derrotados (Czeh y cols., 2001; Van Der Hart y cols., 2002). A la vista de estos resultados, se ha sugerido que los cambios en la neurogénesis hipocampal producidos por el estrés están mediados por los sistemas serotoninérgico y glucocorticoideo.

Por último, el estrés social también produce alteraciones a nivel de las glándulas adrenales produciendo un aumento del peso de las mismas en animales derrotados o subordinados (Blanchard y cols., 1995; Brain, 1972; Hukelbridge y cols., 1981; Krugers y cols., 1996; Rygula y cols., 2005).

Además de en el eje HPA el estrés social produce alteraciones en otros sistemas hormonales, como el eje HPG. Se ha encontrado una disminución de la actividad de este eje tras el estrés social en animales subordinados. Las experiencias de derrota y subordinación disminuyen los niveles de FH, LH y de testosterona (Blanchard y cols., 1993; Blanchard y cols., 1995; Huhman y cols., 1991; Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998; Raab y Haedenkamp, 1981). Aunque no todos los estudios encuentran diferencias en los niveles de testosterona (Dijkstra y cols., 1992).

En relación al sistema SAM, se ha observado que tras una interacción agonística los animales derrotados muestran un aumento de la actividad de los enzimas responsables de la síntesis de las catecolaminas, como la feniletanolamina N-metiltransferasa (Brain, 1980; Hukelbridge y cols., 1981) y la tirosina-hidroxilasa (TH) (Raab y Haedenkamp, 1981; Raab y cols., 1986), así como de los niveles de adrenalina (A) y/o NA (Brain, 1980; Fuchs y cols., 1996; Hukelbridge y cols., 1981; Kramer y cols., 1999; Sgoifo y cols., 1996). Sin embargo, este efecto parece depender del número de derrotas ya que en otros estudios con mayor número de derrotas no se observa un aumento de los niveles de NA en los animales subordinados (Brain, 1980; Cacho y cols., 2003; Fano y cols., 2001).

5.5. Sistema inmunitario.

Cada vez son más los estudios que se realizan con el objetivo de conocer de que manera y en que grado el estrés social afecta al sistema inmunitario y a la susceptibilidad a la enfermedad. A grandes rasgos se sabe que el estrés social en general induce un estado de inmunosupresión que se relaciona con un aumento de la predisposición al desarrollo de enfermedad. Sin embargo, como veremos en las próximas líneas no todos los datos apuntan en la misma dirección.

De esta manera y en relación a la respuesta inmunitaria ante las situaciones de estrés social, son diversos los parámetros inmunitarios que se han medido, siendo lo más frecuente el registro de la cantidad de células inmunes, la capacidad proliferativa celular ante la estimulación con mitógenos y la actividad citotóxica de las células NK. Así, existen estudios que reportan una disminución leucocítica por parte de los animales sumisos tras situaciones de estrés social (Stefanski, 1998; Stefanski y Engler, 1999). No obstante, otros estudios no encuentran diferencias en la cantidad de las diferentes poblaciones leucocíticas (Stark y cols., 2001) e incluso hay trabajos que reportan un incremento de la cantidad de granulocitos (Stefanski, 2000) y de neutrófilos (Engler y cols., 2004; Ghosh y cols., 1983) en los animales sumisos. También se ha encontrado un incremento de la capacidad fagocítica de las células del bazo tras estrés social (Lyte y cols., 1990).

Otros estudios en general muestran una disminución de la capacidad proliferativa de los linfocitos T tras el estrés social en los animales sumisos (Bartolomucci y cols., 2001; Hardy y cols., 1990; Raab y cols., 1986; Stefanski, 1998; Stefanski y Engler, 1998; 1999; Vegas y cols., 2006). Sin embargo hay estudios que no encuentran diferencias (Klein y cols., 1992) e incluso existen trabajos que hallan un aumento de ésta (Bohus y cols., 1993). Además, se ha observado que el aumento de esta capacidad proliferativa de las células esplénicas es más acusado en ratones sometidos durante más tiempo a estrés social (Cacho y cols., 2003). Por otra parte, aunque en algunos estudios se haya observado una relación entre altos niveles de corticosterona y un decremento de la capacidad de

proliferación linfocítica T en los animales sumisos (Raab y cols., 1986; Vegas y cols., 2006), en otros experimentos no se encuentra ésta correlación (Cacho y cols., 2003; Dréau y cols., 1999; Fano y cols., 2001; Klein y cols., 1992; Lyte y cols., 1990; Stark y cols., 2001). Se ha sugerido que ésta falta de correlación no es debida al hecho de que la corticosterona no tenga un efecto inmunosupresor, si no más bien, a que las células inmunitarias desarrollan una resistencia a los glucocorticoides (Avitsur y cols., 2001; Stark y cols., 2001). En general los datos indican que no es posible establecer una simple relación entre los altos niveles de glucocorticoides y la actividad inmunitaria.

La respuesta humoral ante situaciones de estrés social se manifiesta mediante una disminución de la producción de inmunoglobulinas G (IgG) en animales sumisos (Tuchscherer y cols., 1998) y una disminución de la producción de anticuerpos anti eritrocitos de carnero en ratas y ratones derrotados (Beden y Brain, 1982; Bohus y cols., 1993), que es más pronunciada cuanto mayor es la cantidad de derrotas sufridas (Beden y Brain, 1982). También se ha encontrado una disminución de la expresión de células formadoras de rosetas (RFC) (Devoino y cols., 2003b) y células formadoras de placas (PFC) (Devoino y cols., 1993; Devoino y cols., 2003b) en respuesta a la inoculación de eritrocitos de carnero en ratones sumisos con diferentes periodos de derrota crónica. En cuanto a la capacidad proliferativa de los linfocitos B ante la estimulación con mitógenos no se han hallado cambios en relación con el estrés social (Hardy y cols., 1990; Stark y cols., 2001).

Por otra parte, se ha encontrado una reducción de la actividad citotóxica de las células NK tras el estrés social, pero no se han observado diferencias entre los sujetos dominantes y sumisos (Azpiroz y cols., 1994; Petit y cols., 1993; Stefanski y Engler, 1999). No obstante, existen datos de que la reducción en la actividad citotóxica de las células NK es más persistente en los animales sumisos que en los dominantes (Stefanski y Engler, 1999). En otros trabajos no se han encontrado diferencias en este parámetro tras el estrés social (Hardy y cols., 1990; Klein y cols., 1992).

El estrés social también produce cambios en los mensajeros inmunológicos. Se ha encontrado un incremento de los niveles de IL-6 (Merlot y cols., 2004; Stark y cols., 2001) e interferon- γ (IFN- γ) (Merlot y cols., 2004) y una disminución de los niveles de IL-2 (Hardy y cols., 1990), IL-4 (Bartolomucci y cols., 2001) e IL-10 (Bartolomucci y cols., 2001; Merlot y cols., 2004) en ratones derrotados.

En general, el efecto que más frecuentemente aparece como consecuencia del estrés producido por pertenecer a un *estatus* social bajo, ser sumiso, o estar sometido a amenaza y ataque continuamente, es una reducción de la capacidad de respuesta del sistema inmunitario. En este sentido es razonable suponer que los animales que se encuentran bajo estas circunstancias, presenten menor resistencia en los modelos de enfermedad que los sujetos controles. De acuerdo con esto, se ha encontrado que el estrés social exagera el daño neuronal provocado por la inoculación del virus de Theiler (Johnson y cols., 2004), provoca un aumento significativo de los focos tumorales experimentalmente inducidos (Vegas y cols., 2006) y causa una mayor retención de células tumorales (Stefanski y Ben-Eliyahu, 1996) en animales derrotados. Este aumento es más acusado en los sujetos derrotados que muestran un afrontamiento del estrés social más pasivo que los que expresan un afrontamiento más activo (Vegas y cols., 2006). También se ha observado que las ratas genéticamente seleccionadas como menos agresivas, manifiestan mayor susceptibilidad al desarrollo de enfermedad tumoral ante la inoculación de 3-metilcolantreno, que las ratas seleccionadas como más agresivas (Petito y cols., 1993).

Como podemos observar en relación al estrés social y el estado inmunitario los diferentes parámetros inmunológicos estudiados no siempre han dado resultados que apuntan en la misma dirección e indican que la relación entre el estrés y el sistema inmunitario es compleja. Las investigaciones, en general, indican una estrecha interrelación entre el estrés y la vulnerabilidad a desarrollar enfermedades relacionadas con el funcionamiento del sistema inmunitario. Sin embargo, a la vista de los datos, por el momento es difícil

Estrés social

establecer un modelo de estado inmunitario en los animales que sufren situaciones de estrés social.

6. ESTRES MEDIO CRONICO.

6.1. El modelo de Estrés Medio Crónico.

El modelo de estrés medio crónico (EMC) fue desarrollado a finales de los años 80 como un modelo animal de depresión que difería con respecto a otros modelos disponibles en que reproduce un síntoma principal de la depresión, la anhedonia (Willner y cols., 1987). La anhedonia definida como un fenómeno de pérdida de respuesta ante estímulos o eventos placenteros es uno de los principales síntomas de la depresión mayor definidos por el DSM-IV y es a su vez el síntoma principal de la depresión melancólica (López y Valdés, 2003).

El modelo de EMC desarrollado por Willner (1987) se basa en los estudios previos realizados por Katz (1981) que muestran que ratas expuestas a una variedad de estresores relativamente severos, durante un período prolongado, reducían la ingesta de líquidos dulces, lo que sugirió que podría ser reflejo de una disminución hedónica, o anhedonia. Este estudio fue el primero de una serie de trabajos acerca de los efectos del estrés crónico sobre la actividad locomotora y la reversión de tales efectos por el tratamiento con antidepresivos (Katz y Hersch, 1981; Katz y cols., 1981a; Katz y cols., 1981b; Katz, 1982; Katz y Baldrighi, 1982; Katz y Sibel, 1982). El procedimiento de EMC difiere del utilizado por Katz (1981) en que la intensidad del estrés utilizado es menor con el objetivo de suministrar una estimulación que reproduzca de forma más parecida a la de los estresores de la vida diaria en humanos y en que utiliza la sensibilidad a la recompensa como medida conductual principal de la anhedonia. El modelo de EMC implica la exposición a una variedad de estresores inesperados de intensidad media durante un período de tiempo prolongado, tales como períodos de privación de agua y comida, pequeñas reducciones de la temperatura, cambios del ciclo de luz oscuridad, aplicación de luz estroboscópica, aplicación de sonidos de alta frecuencia, inclinación de la jaula, etc. Los datos iniciales de la investigación mostraron que los animales expuestos durante varias semanas a dichos estresores reducían gradualmente el consumo de y la preferencia por, una

solución de sacarosa y que este déficit podía ser revertido por el tratamiento con antidepresivos (Willner y cols., 1987). Muchos estudios han utilizado este test como instrumento para la evaluación de la anhedonia inducida por el EMC (Bekris y cols., 2005; D'aquila y cols., 1994; D'aquila y cols., 1997a; Dalla y cols., 2005; Grippo y cols., 2003; Grippo y cols., 2005a; Grippo y cols., 2005b; Gronli y cols., 2004; Gronli y cols., 2005; Li y cols., 2003; Papp y cols., 1994b; Papp y cols., 1994c; Papp y cols., 1996; Papp y cols., 2002; Silberman y cols., 2004; Willner y cols., 1996).

Sin embargo, la dificultad mostrada por diferentes grupos de investigadores para reproducir los resultados ha puesto en duda la replicabilidad del modelo de EMC. Se ha criticado el procedimiento de EMC no solo en relación a la consistencia de los efectos conductuales sino también en relación al efecto preventivo o paliativo de los antidepresivos (Nestler y cols., 2002). Algunos estudios ponen en duda que la disminución de la ingesta de soluciones dulces pueda interpretarse como anhedonia, debido al papel que juega la privación de comida y la consecuente pérdida de peso que se produce, en la génesis de estos efectos (Hatcher y cols., 1997; Mathews y cols., 1995). No obstante, Willner (1997) argumenta que los efectos que ejerce el EMC no pueden ser solamente atribuidos a la pérdida del peso corporal, ya que en procedimientos que se privaba de agua y comida por igual a los sujetos experimentales y controles la disminución de la preferencia se observa solo en sujetos sometidos a EMC (Cheeta y cols., 1994; Dauge y cols., 1996; Valverde y cols., 1997). También en estudios en los que no hubo privación de agua y comida se ha observado una disminución significativa de la preferencia a la sacarosa únicamente en los animales sometidos a EMC (Cheeta y cols., 1994; Dauge y cols., 1996; Valverde y cols., 1997), aunque estas diferencias no se han encontrado en todas las cepas estudiadas (Duccottet y Belzung, 2005). Otros estudios muestran que la disminución de la ingesta de sacarosa es inestable a lo largo del tiempo (Dalla y cols., 2005; Nielsen y cols., 2000; Pothion y cols., 2004) o que se habitúa rápidamente (D'aquila y cols., 1997b; Harro y cols., 1999). Además, se ha referido que un mismo grupo de investigadores no siempre consigue reproducir una disminución de la preferencia de sacarosa (Harris y cols., 1997) e incluso en algunos casos observan

un aumento de esta conducta (Murison y Hansen, 2001). También hay otros estudios en los que no se encuentran cambios significativos en la conducta de ingesta de sacarosa (Haidkind y cols., 2003; Harro y cols., 2001).

Por otro lado, se ha encontrado una gran variabilidad de la conducta de ingesta o preferencia de sacarosa tras el EMC en función de la cepa (Ayensu y cols., 1995; Duccottet y Belzung, 2005; Marona-Lewicka y Nichols, 1997; Nielsen y cols., 2000; Pothion y cols., 2004; Pucilowski y cols., 1993), sexo (Baker y cols., 2006; Konkle y cols., 2003), estado endocrino (Duncko y cols., 2001a; Duncko y cols., 2001b; Gamaro y cols., 2003), estado nutritivo (Harris y cols., 1997; Hatcher y cols., 1997) hora del día (D'aquila y cols., 1997b), condiciones de la cría (D'aquila y cols., 1994) o estatus social (Strekalova y cols., 2004).

Una serie de estudios han encontrado que el tratamiento crónico con antidepresivos con diferentes mecanismos de acción, revierte o previene la disminución de o la preferencia por la ingesta de sacarosa producida por el EMC. De esta manera, se ha observado reversión de la disminución de la preferencia a la sacarosa tras el tratamiento con agentes inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), como el citalopran (Papp y cols., 2002) y la fluoxetina (Ayelli-Edgar y cols., 2002; D'aquila y cols., 1997a; Dziedzicka-Wasylewska y cols., 1997; Grippo y cols., 2005a; Li y cols., 2003; Muscat y cols., 1992; Sluzewska y Szczawinska, 1996). También se ha encontrado el mismo efecto con el agente inhibidor de la recaptación de noradrenalina, maprotilina (Muscat y cols., 1992), así como con el antidepresivo atípico mianserina (Cheeta y cols., 1994). También fueron efectivos los antidepresivos tricíclicos, como la imipramina (Bekris y cols., 2005; Bijak y Papp, 1995; Dziedzicka-Wasylewska y cols., 1997; Kubera y cols., 1995; Kubera y cols., 1996; Monleon y cols., 1995; Muñoz y Papp, 1999; Papp y cols., 1994a; 1994b; Papp y cols., 1994c; Papp y cols., 1996; Papp y cols., 2002; Sampson y cols., 1991; Sluzewska y Szczawinska, 1996; Willner y cols., 1987), desipramina (Kubera y cols., 2001) y amitriptilina (Sampson y cols., 1991) y los inhibidores de la mono-amino-oxidasa (IMAO), como la brofaromina (Papp y cols., 1996). Así mismo, los agonistas parciales 5-

HT_{1A}, buspirona (Papp y cols., 1996) y alnespirona (Muñoz y Papp, 1999) y el agonista 5-HT_{1A}/antagonista 5-HT₂, fiblanserina (D'aquila y cols., 1997a) revertieron, también, los efectos del EMC. Sin embargo otros estudios no encuentran este efecto tras el tratamiento con fluoxetina, fiblanserina, ni con imipramina (Azpiroz y cols., 1999; D'aquila y cols., 1997a). Los estudios con fármacos no antidepresivos, como la d-anfetamina, morfina, o los neurolépticos, haloperidol y clorprotixeno no encuentran una reversión de la disminución de la preferencia de sacarosa inducida por el EMC (Muscat y cols., 1992; Papp y cols., 1996).

El estudio de los efectos del EMC sobre la sensibilidad a la recompensa también se ha abordado utilizando otros parámetros diferentes a los que se basan en la conducta del consumo de soluciones dulces. Algunos estudios que utilizan la prueba de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) indican que el EMC impide o disminuye el condicionamiento. Se ha encontrado disminución del CPL utilizando diferentes refuerzos, como quinpirole (Papp y cols., 1993a; Papp y cols., 1993b), d-anfetamina (Papp y cols., 1991; Papp y cols., 1993a), morfina (Papp y cols., 1992; Valverde y cols., 1997), solución de sacarosa (Papp y cols., 1991) o comida (D'aquila y cols., 1997a; Papp y cols., 1991). Además, la disminución del condicionamiento de lugar coexistió con una disminución de la ingesta de sacarosa (Benelli y cols., 1999; D'aquila y cols., 1997a; Muscat y cols., 1992; Papp y cols., 1991; Papp y cols., 1992). También existen datos de un efecto contrario tras la aplicación del EMC, que muestran un aumento del condicionamiento de preferencia de lugar utilizando cocaína como refuerzo (Haile y cols., 2001). Algunos trabajos que muestran una disminución del CPL tras la aplicación del EMC también encuentran una reversión de este efecto tras el tratamiento con antidepresivos como la fluoxetina (D'aquila y cols., 1997a; Muscat y cols., 1992), imipramina (Valverde y cols., 1997), fiblanserina (D'aquila y cols., 1997a), y maprotilina (Muscat y cols., 1992). Por el contrario, fármacos no antidepresivos, como el clordiazepoxido no producen una reversión del CP (Muscat y cols., 1992).

En contraste con la disminución de la respuesta a la recompensa observada en animales sometidos a EMC, los estudios que miden la respuesta ante estímulos aversivos no encuentran cambios (Papp y cols., 1992) o encuentran un aumento de esta respuesta (Gambarana y cols., 1999; Gambarana y cols., 2001; Murua y cols., 1991). Estos estudios indican que el EMC no causa una atenuación generalizada de las conductas motivadas sino que produce un deterioro específico de las conductas recompensadas.

Otro tipo de prueba también dirigida a medir la sensibilidad al refuerzo evalúa la conducta de “auto-estimulación eléctrica intracraneal” (AEIC) mediante la estimulación de estructuras cerebrales implicadas en el sistema de refuerzo. Existen trabajos que muestran un aumento del umbral para la auto-estimulación cerebral reforzante en el área tegmental ventral mesencefálica en ratas expuestas a EMC (Moreau y cols., 1992; Moreau y cols., 1993; Moreau y cols., 1994a; Moreau y cols., 1994b; Moreau y cols., 1995; Moreau y cols., 1996; Nielsen y cols., 2000; Willner y cols., 1996; Willner, 1997b). Así, los animales requieren una mayor intensidad de estimulación eléctrica para que manifiesten la conducta de AEIC, lo que sugiere una disminución hedónica. Además, se ha visto que el tratamiento con antidepresivos revierte este efecto del EMC (Moreau y cols., 1993; Moreau y cols., 1994b; Moreau y cols., 1995). Sin embargo, en otros trabajos no se observan cambios (Baker y cols., 2006; Nielsen y cols., 2000) o incluso se observa una disminución en el umbral de AEIC (Linn y cols., 2002; Nielsen y cols., 2000). En relación a esto último, se ha sugerido que la exposición a situaciones de estrés de manera crónica podría inducir un estado de mayor sensibilidad al refuerzo que incrementaría la sensibilidad a los efectos de las drogas de abuso modificando los circuitos de la recompensa, especialmente la vía dopaminérgica mesolímbica y podría repercutir en una mayor vulnerabilidad al consumo de las mismas (Linn y cols., 2002).

Algunos trabajos dirigidos a estudiar los efectos del EMC sobre la conducta manifestada por los sujetos en el test de natación forzada, utilizado como modelo animal de depresión, muestran un aumento de la conducta de inmovilidad (Bielajew y cols., 2003; Fujisaki y cols., 2002; Garciamarquez y

Armario, 1987; Griebel y cols., 2002a; Griebel y cols., 2002b; Griebel y cols., 2005; Molina y cols., 1994; Sikiric y cols., 2000; Solberg y cols., 1999; Strelakova y cols., 2004; Tannenbaum y cols., 2002) la cual es revertida por el tratamiento con antidepresivos (Fujisaki y cols., 2002; Sikiric y cols., 2000). Aunque este test no mide sensibilidad a la recompensa, diferentes grupos de investigación han mostrado que los efectos del EMC sobre la conducta manifestada en este test son consistentes con los efectos del EMC sobre la conducta reforzada: en condiciones en las que el EMC causa anhedonia, también aumenta la inmovilidad en el test de natación forzada (Bielajew y cols., 2003; Molina y cols., 1994; Solberg y cols., 1999; Strelakova y cols., 2004; Tannenbaum y cols., 2002). Sin embargo también existen trabajos que encuentran una disminución de la inmovilidad tras el EMC (Haidkind y cols., 2003; Harro y cols., 1999; Harro y cols., 2001).

Además de las medidas de respuesta a la recompensa, se han estudiado otra serie de conductas en animales sometidos a EMC cuya alteración refleja paralelismo con los síntomas de la depresión. Así, se ha encontrado cambios en las características del sueño, como una menor latencia de sueño MOR (Movimiento Ocular Rápido) (Cheeta y cols., 1997; Moreau y cols., 1995), un aumento del tiempo y la frecuencia dedicada a esta fase (Gronli y cols., 2004) y la presencia de sueño fragmentado en los animales expuestos a EMC (Cheeta y cols., 1997; Gronli y cols., 2004; Moreau y cols., 1995). También se ha observado una disminución de la actividad sexual en ratas sometidas a EMC (D'aquila y cols., 1994; Gronli y cols., 2005).

Los cambios que el EMC produce en la actividad locomotora no siempre van en la misma dirección. Así, algunos trabajos señalan una disminución de la actividad registrada en la propia caja del sujeto (Grippio y cols., 2003), en el “test de elección de lugar” (Duccottet y cols., 2004) y en la prueba de campo abierto (Dalla y cols., 2005; Zheng y cols., 2006), efecto que es revertido tras el tratamiento con fluoxetina y con fiblanserina (D'aquila y cols., 1994). Sin embargo, otros estudios no han encontrado diferencias en la actividad locomotora en la prueba de campo abierto (Ossowska y cols., 2004) e incluso muestran un aumento de la actividad en la misma prueba en los animales sometidos a EMC de

diferente duración (Benelli y cols., 1999; Duncko y cols., 2001b; Gronli y cols., 2005; Silberman y cols., 2004).

El estudio de los efectos del EMC sobre el aprendizaje espacial, utilizando la prueba del “laberinto de agua de Morris”, ha dado lugar a resultados que muestran tanto una disminución (Zheng y cols., 2006) como una ausencia de cambios en tres cepas diferentes de ratones (Pothion y cols., 2004) en relación con esta conducta. Otra serie de trabajos han encontrado una disminución de la conducta de autoaseo tras la aplicación de EMC (Alonso y cols., 2004; D'aquila y cols., 2000a; Duccottet y cols., 2003; Duccottet y cols., 2004; Duccottet y Belzung, 2005; Griebel y cols., 2002a; Griebel y cols., 2002b; Mineur y cols., 2003; Pardon y cols., 2000; Pothion y cols., 2004; Santarelli y cols., 2003). Aunque existen pocas evidencias de que la disminución de esta conducta este relacionada con el efecto del EMC sobre la sensibilidad a la recompensa (Pothion y cols., 2004), si que se ha relacionado la disminución del autoaseo con el aumento de la inmovilidad en el test de natación forzada (Griebel y cols., 2002a; Griebel y cols., 2002b). Además, se ha observado una reversión de la disminución de la conducta de autoaseo tras el tratamiento con fluoxetina o antalarmina (inhibidor del CRF) (Duccottet y cols., 2003; Duccottet y Belzung, 2005).

Varios estudios han encontrado que el EMC disminuye la conducta agresiva en ratas o ratones (D'aquila y cols., 1994; Ossowska y cols., 2004). Los animales muestran menor frecuencia de ataque contra el sujeto oponente, un mayor número de ataques recibidos y un aumento en la frecuencia de la conducta de sumisión ante el oponente (D'aquila y cols., 1994). Algunos de estos estudios también han encontrado que la disminución de la conducta agresiva se manifestaba junto a un déficit hedónico (D'aquila y cols., 1994; Tannenbaum y cols., 2002). El tratamiento prolongado con fluoxetina, imipramina, moclobemida y tianeptina revierte este efecto, no así el oxacepan, un agente ansiolítico (Ossowska y cols., 2004).

Los trabajos que han estudiado los efectos del EMC en la conducta manifestada por los sujetos en pruebas que miden el nivel de ansiedad observan

alteraciones de la misma. Así, ratas sometidas a EMC muestran tanto un aumento como una disminución de la frecuencia y del tiempo invertido en los brazos abiertos del “laberinto elevado” lo que sugiere un efecto tanto ansiolítico (D'aquila y cols., 1994) como ansiógeno (Griebel y cols., 2002a). En la “prueba de elección de zona clara-oscura”, se ha observado que los ratones expuestos a EMC invierten mayor tiempo en la zona clara de la caja (Duccottet y cols., 2003; Koop y cols., 1999), que se ha interpretado como una desensibilización de la respuesta emocional tras la exposición a EMC (Duccottet y cols., 2003). Este efecto es revertido tras el tratamiento con fluoxetina y con antalarmina (Duccottet y cols., 2003).

6.2. Cambios neuroquímicos.

Las investigaciones dirigidas a estudiar los cambios neurobiológicos que subyacen a los efectos del EMC muestran datos que implican tanto al sistema noradrenérgico como al sistema serotoninérgico. De esta manera y en relación con el sistema noradrenérgico, se ha observado que la anhedonia causada por el EMC, registrada a través de la reducción del consumo de sacarosa en animales, se asocia con un aumento del ligamiento en los receptores β -adrenérgicos corticales (Klimek y Papp, 1994; Papp y cols., 1994a; Papp y cols., 1994c; Papp y cols., 2002). De acuerdo con esto, el tratamiento farmacológico que disminuye la inmovilidad en el test de natación forzada en animales, se relaciona con una disminución del ligamiento a estos receptores (Haidkind y cols., 2003). Paralelamente, se ha encontrado un aumento del ligamiento de los receptores β -adrenérgicos en los cerebros de las víctimas suicidas (Biegon y Israeli, 1988; Mann y cols., 1986). Otros estudios muestran que el tratamiento crónico con antidepresivos, así como la terapia electroconvulsiva causan una regulación a la baja de los receptores β -adrenérgicos. Por todo ello, el aumento en la densidad de estos receptores se ha relacionado con el desarrollo de un estado depresivo (De Parmentier y cols., 1991; Papp y cols., 1994c).

El EMC también produce cambios funcionales en el sistema serotoninérgico. Se ha encontrado una disminución de la actividad serotoninérgica (ratio 5-HIAA/5-HT o bien niveles de 5-HT o 5-HIAA) en la corteza de ratas sometidas a EMC durante 7 y 10 semanas. El tratamiento prolongado con imipramina o fluoxetina normaliza la actividad serotoninérgica en las ratas expuestas a EMC (Bekris y cols., 2005; Li y cols., 2003). Otros datos también muestran una disminución de los niveles de 5-HIAA y de 5-HT en el hipocampo de ratas sometidas a EMC durante 10 semanas. El tratamiento diario durante 6 semanas con fluoxetina normalizó los niveles del neurotransmisor y su metabolito (Li y cols., 2003). También se ha encontrado un aumento del ratio 5-HIAA/5-HT en el hipocampo y en el hipotálamo de ratas sometidas a EMC durante 7 semanas, que fue normalizado con un tratamiento con imipramina de 4 semanas de duración (Bekris y cols., 2005).

Las investigaciones dirigidas a estudiar los cambios que el EMC produce en los receptores cerebrales aportan datos que indican aumento del ligamiento en los receptores 5-HT₂ en la corteza cerebral de ratas sometidas a EMC (Ossowska y cols., 2001; Papp y cols., 1994b) junto con una disminución del consumo de sacarosa (Papp y cols., 1994b). El tratamiento crónico con imipramina revierte el aumento del ligamiento en los receptores 5-HT₂ (Papp y cols., 1994b). De acuerdo con esto, los análisis *post-mortem* (McKeith y cols., 1987; Yates y cols., 1990), así como, las pruebas de neuroimagen "*in vivo*" de los cerebros de pacientes depresivos (D'Haenen y cols., 1992) indican un aumento del número de receptores 5-HT₂. Este mismo cambio también se ha observado en los cerebros de las víctimas suicidas (Arango y cols., 1990). Los receptores 5-HT_{1A} también han sido implicados en los efectos del EMC observándose un aumento del número de los mismos en el hipocampo (Papp y cols., 1994b).

La mayoría de los trabajos que estudian la implicación de la dopamina en los efectos del EMC se han centrado en el estudio de los mecanismos cerebrales de la recompensa. Si bien es cierto que existen muchos datos que relacionan el estado depresivo con alteraciones de los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico, es el sistema dopaminérgico mesolímbico quien juega un papel

crucial en la ejecución de las conductas recompensadas y por lo tanto en la anhedonia como síntoma de la depresión (Beninger, 1983; Schultz, 1997; Wise, 1982). La anhedonia inducida por el EMC se ha relacionado con la disminución de la conducta de condicionamiento de preferencia de lugar asociada a agonistas dopaminérgicos, como la anfetamina y quinpirole, y con una disminución de los efectos psicoestimulantes de estos agonistas dopaminérgicos (D'aquila y cols., 2000b; Papp y cols., 1991; Papp y cols., 1993a; Papp y cols., 1993b). Estos efectos se acompañan de una disminución en el ligamiento de los receptores D₂ así como en los mensajeros intracelulares de estos receptores en el núcleo accumbens (Dziedzicka-Wasylewska y cols., 1997; Papp y cols., 1994b; Willner y cols., 1991), pero se observa el efecto opuesto en los estudios que encuentran un aumento en la respuesta a la recompensa (Olsen y Carstensen, 2001). Así, el EMC parece que puede producir aumento y disminución de la respuesta a la recompensa y que estos dos efectos se han asociado con cambios opuestos en el sistema cerebral de la recompensa, el sistema mesolímbico dopaminérgico.

Por otra parte, se ha encontrado que los cambios en la actividad dopaminérgica producidos por el EMC son dependientes de la zona cerebral estudiada. Así, se ha observado una disminución de la actividad dopaminérgica (ratio DOPAC/DA y HVA/DA) en el estriado y un aumento de ésta (ratio DOPAC/DA) en el hipotálamo de ratas expuestas a 7 semanas de EMC. El tratamiento con imipramina durante 4 semanas revierte este efecto (Bekris y cols., 2005). Diferentes datos indican que los cambios en la neurotransmisión dopaminérgica pueden jugar un papel funcional importante mediando en las acciones de los antidepresivos. Se ha sugerido que el tratamiento crónico con antidepresivos, produce una sensibilización de los receptores D₂/D₃ en las áreas mesolímbicas (Maj, 1990; Willner, 1989; 2002; Willner y cols., 2005), así este podría ser el mecanismo por el cual los antidepresivos revierten la anhedonia causada por el EMC (Willner, 1997a; Willner y cols., 2005). La disminución del número de receptores D₂/D₃ observada en animales sometidos a EMC ha sido revertida tras el tratamiento con imipramina (Papp y cols., 1994a). Además el aumento de la ingesta de sacarosa en animales sometidos a EMC que fueron tratados con antidepresivos fue revertida tras la administración aguda con

antagonistas D_2/D_3 a dosis bajas (Cheeta y cols., 1994; Willner y cols., 1992). En este sentido, Willner y colaboradores han observado que la administración aguda del antagonista D_2/D_3 , sulpiride, producía un empeoramiento de los síntomas en los pacientes depresivos (Willner y cols., 2005).

6.3. Cambios neuroendocrinos.

Las investigaciones sobre el EMC y sus efectos sobre el sistema neuroendocrino se han centrado principalmente en el estudio del eje HPA. Los datos muestran un aumento de los niveles de ARNm del CRF en el núcleo paraventricular del hipotálamo en ratas sometidas a EMC durante 3 semanas (Duncko y cols., 2001b). Sin embargo, no se han encontrado diferencias en los niveles de ACTH en ratas sometidas a EMC durante 4 semanas (Grippe y cols., 2005c). Otros estudios muestran un aumento de los niveles de corticosterona en suero y de noradrenalina en bazo en animales sometidos a EMC durante periodos no superiores a 4 semanas (Ayensu y cols., 1995; Bielajew y cols., 2002; Froger y cols., 2004; Grippe y cols., 2005b; Silberman y cols., 2002; Silberman y cols., 2003; Silberman y cols., 2004; Zheng y cols., 2006). Aunque hay excepciones y otros trabajos no encuentran diferencias (Duncko y cols., 2001b; Grippe y cols., 2005c). Estudios realizados con periodos superiores a 4 semanas de EMC no reportan diferencias en los niveles de corticosterona ni de catecolaminas (Ayelli-Edgar y cols., 2003; Azpiroz y cols., 1999; Gronli y cols., 2004; Silberman y cols., 2002; Silberman y cols., 2003; Silberman y cols., 2004). Tal y como señala Mizoguchi (2001) (Mizoguchi y cols., 2001) el estrés crónico puede dar lugar a una habituación a los estímulos estresantes de manera que se produzca una menor secreción de corticosteroides en respuesta a la aplicación de una situación de estrés subsiguiente.

Los estudios que se han centrado en los cambios que el EMC produce en los receptores glucocorticoideos (GC), observan que el incremento de corticosterona producido por la aplicación de EMC durante 4 semanas fue acompañado de una disminución del ARNm de los receptores GC (Froger y cols.,

2004; Zheng y cols., 2006) así como del ARNm del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Zheng y cols., 2006) en el hipocampo de ratas y ratones. Se ha sugerido que la regulación a la baja de los receptores GC en el hipocampo podría provocar una alteración del mecanismo de retroalimentación negativo del eje HPA, resultando en cambios degenerativos en el hipocampo. Así mismo, sugieren que la disminución del ARNm del BDNF podría deberse a que el ligamiento del complejo corticosterona-receptores glucocorticoides produjera un bloqueo de la expresión del gen de BDNF. Dado que el BDNF induce neurogénesis, la disminución de éste podría causar la alteración de los procesos neurotróficos y la atrofia hipocampal por un exceso de apoptosis neuronal (Zheng y cols., 2006). Además, la disminución en la expresión de los receptores GC, así como en la expresión del BDNF en el hipocampo es duradera ya que perdura dos semanas después de la finalización del EMC, a pesar de que los niveles de corticosterona se normalicen (Zheng y cols., 2006).

Otros estudios aportan datos sobre los cambios que produce el EMC en la actividad del sistema nervioso autónomo. Se ha encontrado un aumento del tono simpático con un incremento de la tasa cardíaca en las ratas sometidas a EMC (Grippe y cols., 2002; Grippe y cols., 2003; Grippe y cols., 2005a). Los datos en animales relativos al aumento de la tasa cardíaca son similares a los encontrados en pacientes depresivos (Lahmeyer y Bellur, 1987). También se ha encontrado que la exposición a EMC puede causar un aumento de la vulnerabilidad a las arritmias coronarias ventriculares (Grippe y cols., 2004b). Además, se ha observado un incremento de la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona, observándose un aumento de la actividad de la renina y de los niveles de aldosterona en ratas sometidas a EMC. Los autores relacionan este hecho con datos similares hallados en humanos con enfermedad cardiovascular (Grippe y cols., 2005a). Otro dato relevante es que el tratamiento prolongado con fluoxetina mejora la alteración de la tasa cardíaca inducida por el EMC (Grippe y cols., 2005a). La aplicación de EMC inferior a 4 semanas no altera los niveles de hormonas tiroideas T3 y T4. Sin embargo, situaciones de estrés crónico se han relacionado generalmente con una inhibición del eje tiroideo, ya que a partir de 4

semanas de EMC hay una disminución de los niveles de estas hormonas (Cremaschi y cols., 2000; Silberman y cols., 2002).

6.4. Sistema Inmunitario.

Las investigaciones que se han centrado en el conocimiento del estado inmunitario de los sujetos afectados por el EMC han hallado diferentes resultados dependiendo del parámetro inmunitario estudiado. Existen datos que muestran que el EMC causa inmunosupresión; del mismo modo se ha relacionado la depresión con una disminución de la respuesta inmunitaria, que se manifiesta por una reducción de la proliferación linfocítica, de la fagocitosis neutrófila o de la actividad citotóxica de las células NK (Herbert y Cohen, 1993; Irwin, 1995; Leonard, 1995) aunque como veremos en las próximas líneas no todos los resultados van en la misma dirección.

Uno de los primeros estudios mostró que el EMC produce una disminución de la respuesta del complemento. Esta disminución fue más acusada en una línea de ratas seleccionada por su mayor predisposición a manifestar conductas indicativas de depresión, evidenciando su mayor vulnerabilidad a los efectos del EMC (Ayensu y cols., 1995). También se ha encontrado una disminución de la capacidad proliferativa de los linfocitos T ante la estimulación con diferentes mitógenos en ratas y ratones sometidos a EMC de diferentes periodos de duración (Ayelli-Edgar y cols., 2002; Ayelli-Edgar y cols., 2003; Kubera y cols., 1998; Silberman y cols., 2002; Silberman y cols., 2003; Silberman y cols., 2004). El tratamiento prolongado con fluoxetina revierte este efecto (Ayelli-Edgar y cols., 2002). Esta disminución se ha relacionado con una diferente reactividad de los linfocitos de los sujetos sometidos a EMC en respuesta a la activación del sistema SAM y del eje HPA. Los sujetos sometidos a EMC no muestran un aumento de los niveles de catecolaminas o corticosterona, sin embargo se observa una regulación al alza de los receptores β -adrenérgicos en los linfocitos T de estos sujetos (Ayelli-Edgar y cols., 2003), que explicaría la menor respuesta proliferativa de los linfocitos T cuando son incubados con NA o

corticosterona (Ayelli-Edgar y cols., 2003; Silberman y cols., 2004). Otros autores sugieren que la disminución de la proliferación de linfocitos T en los sujetos estresados es debida a una activación de las células T supresoras (CD8) que a su vez inhiben la respuesta de los linfocitos T (Kubera y cols., 1998). Sin embargo, en otros estudios se ha encontrado que el EMC induce un aumento de la capacidad proliferativa de los linfocitos T tras la estimulación con mitógenos (Azpiroz y cols., 1999; Kubera y cols., 1996), que fue disminuida por el tratamiento crónico con imipramina y desipramina (Azpiroz y cols., 1999; Kubera y cols., 1995; Kubera y cols., 1996; Kubera y cols., 2001). En esta misma línea, en otros modelos animales de estrés prolongado también se ha observado una intensificación de la respuesta inmunitaria (Jessop y cols., 1987; 1988). Otros trabajos no encuentran diferencias en la proliferación de las células T en ratas y ratones expuestos a EMC de diferente duración (Kubera y cols., 1995; Silberman y cols., 2002).

Por otra parte, la mayoría de los estudios acerca de los efectos del EMC en la capacidad proliferativa de los linfocitos B, muestra un aumento de esta respuesta tras la estimulación con diferentes mitógenos en ratones sometidos a periodos superiores a 3 semanas de EMC (Ayelli-Edgar y cols., 2002; Kubera y cols., 1998; Silberman y cols., 2002).

La actividad de las células NK también se ha visto alterada tras el EMC. Los datos muestran una disminución de la actividad citotóxica de las células NK en ratones y ratas sometidos a EMC (Kubera y cols., 1998; Li y cols., 2003). El tratamiento prolongado con fluoxetina revierte esta disminución (Li y cols., 2003). Se ha sugerido que la disminución de la citotoxicidad de las células NK podría estar relacionada con una disminución de la IL-2, la cual actúa como estimuladora de la actividad de las NK (Kubera y cols., 1998; Li y cols., 2003). Sin embargo, también aquí hay que señalar que no todos los trabajos encuentran diferencias en la actividad citotóxica de las células NK en los animales sometidos a EMC (Kubera y cols., 2001).

Caben señalar los estudios que han tratado de esclarecer la influencia del EMC sobre el sistema inmunitario centrándose en las citocinas como mecanismos mediadores. Algunos datos muestran un aumento significativo de la producción espleno-cítica de IL-1, así como un aumento de IL-1 en plasma sanguíneo y en el hipotálamo de ratones y ratas sometidas a EMC (Grippe y cols., 2005b; Kubera y cols., 1996; Kubera y cols., 1998). Se ha sugerido que este aumento de los niveles de IL-1 puede estar relacionada con la severidad de la depresión ya que se ha asociado con el grado de anhedonia encontrado en los sujetos sometidos a EMC (Grippe y cols., 2005b). La administración prolongada de imipramina revierte el aumento de IL-1 producido por el EMC (Kubera y cols., 1996). El aumento de los niveles de IL-1 podría estar implicado en la inmunosupresión encontrada en los ratones estresados crónicamente (Kubera y cols., 1998), ya que existen datos que indican que el aumento de IL-1 produce un efecto inmunosupresor mediante la liberación de monoaminas y CRF de diferentes áreas cerebrales (Friedman y cols., 1994; Irwin y cols., 1988). El aumento de liberación de citocinas encontrado en sujetos sometidos a EMC (Grippe y cols., 2005b) ha sido interpretado como resultado de la continua activación del eje HPA, producida por el estrés crónico, que induciría una regulación a la baja de los receptores de glucocorticoides en las células inmunitarias con la consecuente disminución de la sensibilidad de las mismas a la corticosterona (Miller y cols., 2002). Se ha observado también un aumento de la liberación de IL-2 en las ratas sometidas a EMC que fue revertido tras el tratamiento prolongado con imipramina (Kubera y cols., 1996). Se ha interpretado que el aumento de la IL-2 podría ser debida a la estimulación inducida por la IL-1, que a su vez estaría activada por la alteración del eje HPA en las ratas sometidas a EMC. Otros trabajos obtienen resultados opuestos, es decir, encuentran una disminución de la liberación espleno-cítica de IL-2 en ratones y ratas sometidos a EMC (Kubera y cols., 1998; Li y cols., 2003). Según los autores la disminución de la liberación de IL-2 podría estar relacionada con la disminución hallada en la actividad citotóxica NK y en la inmunidad celular (Kubera y cols., 1998; Li y cols., 2003), ya que la IL-2 actúa como factor estimulador en estas poblaciones celulares (Kim y cols., 2006). Por otro lado, no se han encontrado diferencias en los niveles de IL-10 en ratones sometidos a EMC, aunque, el tratamiento prolongado con desipramina produjo un aumento

de la liberación de IL-10 tanto en los ratones sometidos a EMC como en los controles (Kubera y cols., 2001). También se ha investigado la relación del EMC con el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), observándose un aumento de la concentración de este en plasma sanguíneo, en hipotálamo y en la hipófisis en los ratones sometidos a EMC. Además, se observa una relación entre el nivel de TNF- α y la preferencia en el test de sacarosa, observándose que los animales con mayor concentración de TNF- α expresan mayor disminución en el consumo de sacarosa (Grippio y cols., 2005b). Se ha sugerido que el incremento de TNF- α en el hipotálamo puede intensificar la actividad del eje HPA, la cual también se encuentra aumentada en un gran número de pacientes depresivos (Grippio y cols., 2005b).

Como podemos observar gran parte de los trabajos encuentran que el EMC en general provoca una disminución de la respuesta inmunitaria en la mayoría de los parámetros inmunitarios, aunque todavía los datos disponibles no nos permiten tener una idea clara acerca de cómo el EMC afecta al sistema inmunitario.

7. LA FLUOXETINA.

La fluoxetina es un fármaco que pertenece al grupo de los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS). Los ISRS son eficaces en el tratamiento de la depresión, pero además lo son también en el tratamiento de diversos trastornos asociados a una disfunción de la serotonina, como el trastorno de ansiedad, trastorno de estrés postraumático (TEPT), trastorno obsesivo compulsivo, obesidad, bulimia, síndrome premenstrual, eyaculación precoz e incluso en el tratamiento de la conducta agresiva (Anderson, 1999; Coccaro y cols., 1997; Perez y cols., 1997; Raap y Van De Kar, 1999; Sanchez y Meier, 1997; Wong y cols., 1995).

La fluoxetina, administrada oralmente, tras el primer paso metabólico hepático tiene una biodisponibilidad bastante alta, alrededor del 90%. La fluoxetina se desmetila en el hígado, produciéndose varios metabolitos, de los cuales, el único activo es la norfluoxetina que parece ser tan efectivo farmacológicamente como la fluoxetina. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan a las 6-8 horas. Las concentraciones en estado de equilibrio de la fluoxetina y la norfluoxetina se alcanzan a las 2-4 semanas. La fluoxetina se une en gran medida a las proteínas de plasma, sobre todo a la glicoproteína α -1 y se distribuye ampliamente por todo el organismo, cruzando fácilmente la barrera hematoencefálica. La dosificación varía dependiendo del tratamiento, por ejemplo para el tratamiento de la depresión la dosis usual está entre 20-80 mg/día en personas adultas y ancianos. De todos los ISRS la fluoxetina es la que mayor vida media tiene, esta se encuentra en torno a los 2-7 días y la norfluoxetina en torno a los 4-15 días. La larga vida media del fármaco puede ser ventajosa cuando un paciente omite su toma (Gourion y cols., 2004; Vaswani y cols., 2003). La eliminación del fármaco depende de las diferencias interindividuales, probablemente debido a las diferentes velocidades de metabolización entre los diferentes sujetos. Aproximadamente el 60% de una dosis se elimina en los 35 días siguientes en la orina, mientras que en las heces se excreta alrededor del 12%. En algunos pacientes se han encontrado efectos

adversos tras el tratamiento con fluoxetina u otros ISRS, como agitación, alteraciones del sueño, temblor, disfunción sexual (principalmente anorgasmia), cefalea, alteraciones de la motilidad gastrointestinal, náuseas, sequedad de boca, sudoración profusa y modificaciones del peso (Rosenbaum y Tollefson, 2006; Stahl, 1998).

La acción antidepresiva de la fluoxetina y de los ISRS en general, está relacionada con su efecto inhibitor de la recaptación de la serotonina, dándose un aumento de la concentración del neurotransmisor tanto en la zona somatodendrítica como en la terminal nerviosa. Sin embargo, mientras que la inhibición del transportador es inmediata, el efecto terapéutico necesita semanas para poder observarse y la demora del efecto terapéutico es una cuestión que todavía queda por resolver (Gourion y cols., 2004; Vaswani y cols., 2003). Se ha propuesto la hipótesis de que la demora en el efecto terapéutico de los ISRS se relaciona con un mecanismo de regulación del feedback negativo de la transmisión serotoninérgica. El aumento de la concentración de serotonina en el núcleo del rafe producido por la fluoxetina podría explicar la desensibilización de los autorreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} y el aumento de la liberación de serotonina en las regiones cerebrales críticas que median en los mecanismos fisiopatológicos de la depresión (Goodwin, 1996; Hjorth y Auerbach, 1994; Le Poul y cols., 1995; Le Poul y cols., 2000; Mongeau y cols., 1997; Stahl, 1998). Por otra parte, existen datos de que el aumento del metabolismo serotoninérgico en el hipotálamo, hipocampo y corteza prefrontal producido por el tratamiento crónico con fluoxetina es contrarrestado por el tratamiento combinado con un antagonista 5-HT_{1B} (SB-224289), sugiriendo que los autorreceptores terminales 5-HT_{1B} podrían también estar implicados en el aumento de la actividad serotoninérgica inducido por la fluoxetina (Stenfors y Ross, 2002). Este aumento de la actividad serotoninérgica producido por la administración crónica de ISRS finalmente induce a una desensibilización de los receptores 5-HT_{1A} hipotalámicos postsinápticos (Li y cols., 1994; Li y cols., 1996; Li y cols., 1997; Raap y cols., 1999a; Raap y cols., 1999b; Van De Kar y cols., 2002) que coincide en el tiempo con la mejora terapéutica observada en los pacientes depresivos. Así mismo, ante el tratamiento crónico con los ISRS algunos estudios reportan que no se observa

un cambio en la densidad de los receptores 5-HT_{1A} pero si se observa una disminución en los niveles de proteína G_z relacionada con estos receptores (Li y cols., 1996; Li y cols., 1997; Raap y Van De Kar, 1999). Por otra parte, la implicación de los receptores 5-HT_{1A} en el efecto ansiolítico de la fluoxetina no está del todo clara. Existen datos de que la administración conjunta de fluoxetina con un antagonista de los receptores 5-HT_{1A} no revierte su efecto ansiolítico (De Vry y cols., 2004).

En relación a los efectos que induce la fluoxetina en la liberación hormonal, se sabe que la administración aguda de los ISRS tiene una débil respuesta neuroendocrina (Raap y cols., 1999b; Raap y Van De Kar, 1999). Una posible explicación para esto se basa en la hipótesis de que el bloqueo de la recaptación de serotonina en el núcleo del rafe eleva los niveles de serotonina, activando así los autorreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A}, lo que induciría una inhibición de la liberación de serotonina por acción de feedback negativo. Consecuentemente, se observaría una menor activación postsináptica de los receptores serotoninérgicos en las células hipotalámicas, con una menor respuesta neuroendocrina a la administración aguda de los ISRS.

Los estudios sobre los efectos de la administración crónica de fluoxetina y de los ISRS, tanto en personas voluntarias como en animales, en general, muestran que estos fármacos no producen cambios significativos en los niveles hormonales basales (Berlin y cols., 1998; Duncan y cols., 1998; Durand y cols., 1999; Faull y cols., 1991; Raap y Van De Kar, 1999; Zhang y cols., 2000). Los hallazgos efectuados en pacientes depresivos tampoco son consistentes, dado que existen grandes variaciones en los niveles hormonales que en parte pueden deberse a la propia alteración del eje HPA observada en muchos de estos pacientes (Duncan, 1996; Lesch, 1991; Raap y Van De Kar, 1999). No obstante, el tratamiento crónico con los ISRS junto con la administración aguda de agonistas 5-HT_{1A} en experimentación animal y en voluntarios sanos, reduce la secreción de ACTH, corticosterona o cortisol y oxitocina (Berlin y cols., 1998; Li y cols., 1993; Li y cols., 1994; Raap y cols., 1999a; Raap y cols., 1999b; Van De Kar y cols., 2002). Una menor liberación de estas hormonas por los agonistas 5-HT_{1A} se ha

relacionado con una desensibilización de los receptores postsinápticos 5-HT_{1A} en el hipotálamo que se desarrolla gradualmente hacia las dos semanas del inicio de la administración crónica de fluoxetina u otros ISRS (Berlin y cols., 1998; Li y cols., 1994; Li y cols., 1996; Li y cols., 1997; Raap y cols., 1999a; Raap y cols., 1999b; Van De Kar y cols., 2002), un periodo similar al de la mejora terapéutica observada en los pacientes depresivos.

Por otro lado, estudios realizados con modelos animales de estrés encuentran que la administración crónica de la fluoxetina produce una reversión del aumento de los niveles de ACTH en ratones sometidos a estrés auditivo crónico (Freire-Garabal y cols., 2002). Sin embargo, otros trabajos en los que se emplearon diferentes modelos de estrés animal no han encontrado cambios en los niveles hormonales de ACTH, corticosterona, oxitocina o prolactina tras el tratamiento crónico con fluoxetina (Duncan y cols., 1998; Durand y cols., 1999; Zhang y cols., 2000).

Las investigaciones que abordan el estudio de los efectos conductuales de la fluoxetina en diferentes especies animales sometidas a situaciones de estrés han mostrado una mejoría de la conducta tras el tratamiento crónico con este fármaco. Así, se ha observado, en ratas sometidas al paradigma de miedo condicionado mediante shock eléctrico, un aumento del tiempo dedicado a la exploración, una disminución del tiempo que permanecen inmóviles y una disminución de la defecación (Zhang y cols., 2000). En ratones, se observa un aumento de la conducta de exploración tras previa exposición a un gato (Belzung y cols., 2001). La administración crónica de fluoxetina también inhibe los efectos ansiógenos producidos por la administración de CRF en un paradigma de interacción social en ratas (To y cols., 1999). Así mismo, se ha encontrado que la fluoxetina disminuye la cantidad de vocalizaciones emitidas por crías de rata y cobaya en la prueba de separación materna, la cual mide el nivel de ansiedad de las crías expuestas (Dawson y cols., 2006). También se ha encontrado un aumento de la locomoción en la prueba de campo abierto (Dulawa y cols., 2004). Sin embargo, otros estudios no encuentran una mejora conductual tras el tratamiento crónico con fluoxetina en pruebas como el laberinto elevado, caja de exploración de la zona clara-oscura o en el test de campo abierto (Duccottet y

cols., 2003; Durand y cols., 1999; Silva y Brandao, 2000). Por otra parte, la fluoxetina produce una disminución de la inmovilidad en la prueba de estrés por natación forzada (Dulawa y cols., 2004; Duncan y cols., 1998) y una disminución de la conducta de inmovilidad en situaciones de derrota social en ratas (Berton y cols., 1999), conductas que han sido relacionadas con el estado depresivo. El tratamiento prolongado con fluoxetina también mejora las conductas motivadas para la obtención del refuerzo en diferentes pruebas que miden el nivel hedónico de los animales. Así, se observa un aumento de la ingesta de leche condensada en la prueba de “hipofagia asociada a un lugar novedoso” (Dulawa y cols., 2004), una reversión de la disminución de la ingesta de sacarosa (Ayelli-Edgar y cols., 2002; Muscat y cols., 1992) y de la disminución del condicionamiento de preferencia de lugar tras la exposición a EMC (Muscat y cols., 1992). El efecto reforzante de la fluoxetina podría darse a través de la modulación que el sistema serotoninérgico ejerce sobre la actividad del sistema dopaminérgico mesolímbico (Subhan y cols., 2000).

La fluoxetina, al igual que otros antidepresivos con diferentes mecanismos de acción influye en la actividad del sistema inmunitario. Ensayos “*in vitro*” con células sanguíneas humanas, estimuladas con diferentes antidepresivos, incluida la fluoxetina muestran un aumento significativo de la producción de IL-10 (citoquina anti-inflamatoria) y/o una disminución de la producción de IF- γ , IL-1, IL-6 y TNF (Kubera, 1999; Kubera y cols., 2000a; Maes y cols., 1999; Xia y cols., 1996). Se ha sugerido que el aumento de la IL-10 podría contribuir a la reducción de los efectos adversos que pueden ejercer las citoquinas pro-inflamatorias y regular la respuesta inmune (Kubera y cols., 2000a). También se ha encontrado que la fluoxetina aplicada “*in vitro*” inhibe la respuesta proliferativa de linfocitos T, estimulada con Con-A, tanto en células humanas como de animales (Ayelli-Edgar y cols., 1996; Ayelli-Edgar y cols., 1999). Otros estudios realizados “*in vivo*” muestran que la administración aguda de fluoxetina está relacionada con una disminución de la actividad citotóxica de las células NK, así como de la respuesta proliferativa de las células linfocíticas en ratas. Estos efectos se han relacionado con la activación de los receptores 5-HT_{2A} (Pellegrino y Bayer, 2002). Sin embargo, cuando la fluoxetina se administra de forma

crónica, no se observan estos cambios en el sistema inmunitario posiblemente debido a una desensibilización de los receptores serotoninérgicos implicados (Pellegrino y Bayer, 1998).

Otros estudios realizados en animales sugieren que el tratamiento prolongado con fluoxetina junto con la administración aguda de 5-HTP aumentan la liberación del factor liberador de prolactina (PRF) y la prolactina (Garthwaite y Hagen, 1979). También se ha observado que el tratamiento crónico de fluoxetina junto con la administración aguda de dexametasona produce un aumento de los niveles de GH (Thakore y Dinan, 1995). Estas hormonas, intensifican la inmunidad celular y revierten algunos de los efectos negativos que ejerce la corticosterona sobre la función inmune, participando en la repoblación celular del timo (Bernton y cols., 1992; Holaday y cols., 1988).

Por otra parte, estudios con modelos animales de estrés encuentran una mejora del sistema inmunitario tras la administración crónica de fluoxetina. De este modo, se ha encontrado una reversión de la disminución proliferativa de los linfocitos T tras la aplicación de EMC en animales (Ayelli-Edgar y cols., 2002) y un aumento de la actividad fagocítica de las células macrófagas tanto “*in vivo*” como “*in vitro*” en ratones sometidos a estrés auditivo crónico (Freire-Garabal y cols., 2002). La fluoxetina también revierte el efecto inmunosupresor sobre las células del bazo, del timo, y de la población linfocítica periférica que produce el estrés auditivo crónico en ratas (Freire-Garabal y cols., 1997). Además, El tratamiento prolongado con los ISRS en pacientes depresivos normaliza los altos niveles de producción de IL-6, IF-gamma y los niveles de proteínas de fase aguda (Maes y cols., 1997; Sluzewska y cols., 1995).

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.

Este trabajo de investigación plantea dos objetivos generales. El primer objetivo es estudiar los efectos de dos tipos de estrés, el estrés social y el estrés medio crónico de diferente duración sobre la conducta, actividad neuroendocrina y la actividad inmunitaria, en ratones. Un segundo objetivo consiste en el estudio de los efectos del tratamiento con el antidepresivo fluoxetina sobre las alteraciones producidas por la aplicación crónica de ambos tipos de estrés, para observar si produce una reversión de las mismas. El interés se centra en aportar un conjunto de datos que permitan un acercamiento al conocimiento de los mecanismos implicados en los efectos del estrés y su posible relación con las psicopatologías.

Efectos del estrés social y del estrés medio crónico.

A pesar de que la respuesta de estrés cumple una función adaptativa que prepara al organismo para hacer frente a los estímulos amenazantes (alostasis) puede, en función de la cronicidad e impredecibilidad, suponer un coste para el organismo (carga alostática) y finalmente favorecer el desarrollo de patologías tanto fisiológicas como conductuales (Korte y cols., 2005; McEwen, 2000; 2003; McEwen y Wingfield, 2003). La duración y el tiempo de exposición al estresor es un factor crucial y puede dar lugar a diferentes patrones de alteraciones fisiológicas y emocionales en los sujetos sometidos a estrés (Avgustinovich y cols., 1999; Avgustinovich y cols., 2001; Cacho y cols., 2003; Devoino y cols., 2003b; Fano y cols., 2001; Flugge y cols., 1997b; Kudryavtseva y cols., 1991a; Kudryavtseva y Avgustinovich, 1998; Zelena y cols., 1999).

Puesto que el objetivo de la mayoría de los modelos animales de estrés es mimetizar patologías humanas relacionadas con el estrés, se intenta inducir un estado en los animales experimentales que de lugar a signos conductuales o fisiológicos similares a los que se dan en los desórdenes clínicos. La continua

aportación de nuevos conocimientos procedentes de la investigación clínica, hace necesaria la experimentación con modelos animales de psicopatologías para aportar nuevos datos que contrastar con los hallados en la investigación clínica. En este sentido, la utilización de dos modelos animales diferentes, el estrés social por derrota (Kudryavtseva, 1991; Kudryavtseva y cols., 1991a) y el estrés medio crónico (Monleon y cols., 1995; Willner y cols., 1987), considerados como modelos animales de depresión, nos permitirá aportar datos a cerca de los cambios tanto fisiológicos como conductuales que producen y considerar su similitud con los encontrados en humanos.

Existen datos que indican la importancia de factores sociales tales como el aislamiento social, la sobrepoblación, o cambios en la relación jerárquica, a la hora de producir alteraciones en la conducta y la fisiología de los animales (Valdman y Poshivalov, 1980). Concretamente, el estrés social producido por la derrota en roedores tiene claras consecuencias conductuales, como la disminución de la actividad exploratoria, alteración de los ritmos circadianos y del sueño (Harper y cols., 1996; Meerlo y cols., 1997a; Meerlo y cols., 1997b), disminución de la sensibilidad a la recompensa (Rygula y cols., 2005), así como aumento del tiempo de inmovilidad en el test de Porsolt que se han considerado signos indicativos de depresión (Avgustinovich y cols., 2003; Bartolomucci y cols., 2003; Berton y cols., 1998; Kudryavtseva y cols., 1991a). La derrota social también ha sido relacionada con aumento de la ansiedad (Avgustinovich y cols., 1997; Avgustinovich y cols., 2003; Berton y cols., 1998; Haller y Halasz, 2000; Keeney y Hogg, 1999; Zelena y cols., 1999).

Por otra parte, existen evidencias de cambios en la actividad serotoninérgica y dopaminérgica en animales derrotados sometidos a estresores sociales que sugieren una disfunción de este sistema (Berton y cols., 1999; Devoino y cols., 2003b; Flugge, 1995; Haney y cols., 1990; Tidey y Miczek, 1996). Igualmente, se han observado cambios neuroendocrinos que implican una activación crónica del eje hipotálamo-pituitario-adrenal aunque también han sido implicados otros sistemas hormonales (Bartolomucci y cols., 2001; Blanchard y cols., 2001b; Fuchs y cols., 1996; Martinez y cols., 1998). Además hoy en día, se sabe que los estresores psicológicos pueden comprometer la

función inmune. Así, aunque no todos los resultados son consistentes, diferentes estudios indican que el estrés social producido por la derrota se asocia con una disminución de la competencia inmunitaria (Devoino y cols., 2003a; Stefanski y Engler, 1998).

En general, los datos existentes apoyan la idea de que el estrés social producido por la derrota puede ser válido como modelo animal de depresión. Sin embargo, pocos trabajos han utilizado el modelo de estrés social por contacto sensorial (Kudryavtseva y cols., 1991a) para estudiar el papel jugado por los neuromediadores y su posible influencia en la respuesta conductual e inmune. En este modelo, el sujeto derrotado tras la interacción agonística, permanece en contacto sensorial permanente con el oponente dominante, aunque sin posibilidad de interacción física, quedando sometido a una situación de estrés social permanente. Lo cual nos permite estudiar de una manera más fehaciente el impacto de los estresores sociales. Otros datos indican, que los efectos de los estresores sociales pueden depender de la duración y tiempo de exposición al estrés (Cacho y cols., 2003; Fano y cols., 2001; Zelena y cols., 1999) pudiendo producir diferentes alteraciones conductuales e inmunitarias que reflejen un estado del individuo diferente que podría llegar a manifestarse mediante diversas patologías, por lo que un estrés de diferente duración nos permitirá estudiar cuándo el estrés tiene efectos que puedan ser generadores de psicopatologías, como la depresión o la ansiedad.

Por otra parte, las investigaciones que utilizan un modelo de estrés medio crónico mediante la aplicación de diferentes estresores físicos de carácter variable e impredecible también aportan datos que relacionan este tipo de estrés con diferentes alteraciones conductuales y fisiológicas, que reflejan un estado de depresión (Bekris y cols., 2005; Papp y cols., 1994b; Willner y cols., 1987; Willner y cols., 1996). Sin embargo, los resultados no son siempre consistentes. Existe controversia con respecto a la validez de este modelo, ya que la anhedonia en la que se basa principalmente no siempre se encuentra como síntoma de un estado de depresión (Duccottet y Belzung, 2005; Linn y cols., 2002; Mathews y cols., 1995; Nielsen y cols., 2000).

Las medidas del consumo de sacarosa y de la conducta de autoestimulación eléctrica intracraneal (AEIC) muestran una gran variabilidad y no siempre indican un estado de anhedonia, por lo que se plantea si son instrumentos adecuados para medirla. Algunos estudios muestran que la disminución de la ingesta de sacarosa en ratas es inestable a lo largo del tiempo (Nielsen y cols., 2000) o que se habitúa rápidamente (D'aquila y cols., 1997a; Harro y cols., 1999). Otros investigadores no siempre encuentran una disminución de la preferencia de sustancias dulces cuando replican los experimentos (Gronli y cols., 2004; Gronli y cols., 2005; Harris y cols., 1997) e incluso se ha encontrado el efecto opuesto, es decir, un aumento del consumo de sacarosa (Murison y Hansen, 2001) o que no se altera (Haidkind y cols., 2003; Harro y cols., 2001). Sin embargo, los datos existentes procedentes de estudios que utilizan la preferencia de lugar como medida hedónica (D'aquila y cols., 1997a; Muscat y cols., 1992; Papp y cols., 1991; Papp y cols., 1992; Valverde y cols., 1997), parecían más consistentes por lo que nos planteamos la utilización de esta medida con el interés de observar si se producía el efecto esperado.

Los efectos del estrés medio crónico sobre otras conductas relacionadas con el estado de depresión también han dado lugar a resultados opuestos. Así, se ha encontrado tanto disminución (Dalla y cols., 2005; Duccottet y cols., 2004; Grippo y cols., 2003; Zheng y cols., 2006) como aumento de la actividad locomotora (Benelli y cols., 1999; Duncko y cols., 2001b; Gronli y cols., 2005; Silberman y cols., 2004). Igualmente, el EMC produce tanto una disminución (D'aquila y cols., 1994; Koop y cols., 1999) como un aumento (Griebel y cols., 2002a) de la conducta de ansiedad.

Aunque los resultados no siempre son homogéneos existen datos de que el EMC produce una disminución de la actividad serotoninérgica (Bekris y cols., 2005; Li y cols., 2003) junto con una disminución del consumo de sacarosa (Papp y cols., 1994b); sin embargo, son pocas las investigaciones realizadas y no esta clara la implicación de la serotonina en los efectos del EMC. Los datos de las investigaciones a cerca de los efectos del EMC sobre la actividad dopaminérgica, tampoco son muy clarificadores (Bekris y cols., 2005; Ossowska y cols., 2001). Por otra parte, aunque no hay muchos datos sobre los efectos del EMC sobre la

actividad del eje HPA, algunos trabajos indican una hiperactividad del mismo manifestada por el aumento de los niveles de corticosterona (Bielajew y cols., 2002; Froger y cols., 2004; Grippo y cols., 2005b; Silberman y cols., 2004; Zheng y cols., 2006). En general, los trabajos realizados sobre los efectos del EMC sobre la función inmunitaria muestran una disfunción de la respuesta inmunitaria (Ayelli-Edgar y cols., 2002; Ayelli-Edgar y cols., 2003; Kubera y cols., 1998; Silberman y cols., 2002; Silberman y cols., 2003; Silberman y cols., 2004).

Los datos de las investigaciones sobre el estrés social y el EMC a veces son inconsistentes y pocos estudios analizan conjuntamente los cambios conductuales, neuroquímicos, hormonales e inmunitarios que producen y queda por establecer si dichos cambios son signos conductuales y/o fisiológicos de la depresión. La aplicación de ambos tipos de estrés esperamos produzcan alteraciones en las variables fisiológicas y conductuales medidas que además serán diferentes en función del tipo y tiempo de estrés aplicado.

Considerando la importancia de los estresores sociales y más concretamente de la derrota social a la hora de producir respuesta de estrés en los sujetos (Koolhaas y cols., 1997; Kudryavtseva y cols., 1991b), esperamos que un modelo de estrés psicosocial produzca alteraciones fisiológicas y conductuales de mayor impacto que las producidas por un modelo que utiliza estresores no sociales.

Nuestro primer objetivo general podemos desglosarlo en dos objetivos concretos:

- Estudio de los efectos del estrés social producido por nueve y veintitrés derrotas sobre la conducta agonística de ratones subordinados, la actividad monoaminérgica hipotalámica, la actividad inmunitaria medida a través de la capacidad proliferativa de los linfocitos T del bazo y la actividad del eje HPA medida a través de los niveles séricos de corticosterona.

- Estudio de los efectos del estrés medio crónico de una y tres semanas de duración sobre la conducta de condicionamiento de preferencia de lugar, la actividad monoaminérgica hipotalámica, la actividad inmunitaria medida a través de la capacidad proliferativa de los linfocitos T de bazo y la actividad del eje HPA medida a través de los niveles séricos de corticosterona.

Efectos del tratamiento crónico con fluoxetina sobre los cambios producidos por el estrés social y el estrés medio crónico.

Diferentes datos indican la eficacia de los tratamientos antidepresivos a la hora de revertir las alteraciones conductuales y fisiológicas producidas por el estrés e indicativas de un estado depresivo (Czeh y cols., 2001; Dziejzicka-Wasylewska y cols., 1997; Fuchs y cols., 1996; Kubera y cols., 1998; Li y cols., 2003; Marona-Lewicka y Nichols, 1997; Papp y cols., 2002; Van Der Hart y cols., 2002). La fluoxetina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, ha demostrado su eficacia en trastornos como la ansiedad y la depresión. Su efecto terapéutico se ha relacionado con los cambios neuroadaptativos de los receptores serotoninérgicos que se producen como consecuencia de un aumento de la transmisión serotoninérgica inducida por el fármaco (Goodwin, 1996; Hjorth y Auerbach, 1994; Le Poul y cols., 2000). Aunque no todos los datos son consistentes, algunas investigaciones sugieren que el tratamiento con ISRS reduce la secreción de ACTH y de corticosterona a través de una desensibilización de los receptores 5-HT_{1A} hipotalámicos (Li y cols., 1996; Li y cols., 1997) que coincide en el tiempo con el inicio de la mejora terapéutica observada en los pacientes depresivos. Además, varios estudios que utilizan modelos animales de estrés encuentran que la fluoxetina revierte los cambios producidos por el estrés en la actividad inmunitaria (Ayelli-Edgar y cols., 2002; Freire-Garabal y cols., 1997; Freire-Garabal y cols., 2002). Igualmente, en pacientes depresivos el tratamiento prolongado con ISRS parece tener un efecto beneficioso en la normalización de la función inmunitaria (Maes y cols., 1997; Sluzewska y cols., 1995).

Teniendo en cuenta lo anteriormente dicho, esperamos que el tratamiento crónico con fluoxetina produzca un efecto de mejora de las alteraciones producidas en la

conducta, reflejándose también en cambios a nivel fisiológico en monoaminas cerebrales, glucocorticoides y sistema inmunitario.

Nuestro segundo objetivo podemos desglosarlo en dos objetivos concretos:

- Estudio de los efectos del tratamiento crónico con fluoxetina sobre los cambios producidos por el estrés social, generado por cincuenta y dos días de experiencia de derrota en ratones subordinados, sobre la actividad monoaminérgica hipotalámica, la actividad inmunitaria medida a través de la capacidad proliferativa de los linfocitos T de bazo y la actividad del eje HPA medida a través de los niveles séricos de corticosterona.

- Estudio de los efectos del tratamiento crónico con fluoxetina sobre los cambios producidos por el estrés medio crónico de siete semanas de duración sobre la conducta de condicionamiento de preferencia de lugar, sobre la actividad monoaminérgica hipotalámica, la actividad inmunitaria medida a través de la capacidad proliferativa de los linfocitos T de bazo y la actividad del eje HPA medida a través de los niveles séricos de corticosterona.

MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

1. SUJETOS Y ALOJAMIENTO

Todos los experimentos fueron realizados en el laboratorio de Psicobiología de la Facultad de Psicología de la UPV/EHU (San Sebastián). Para ello se emplearon ratones macho de las cepa OF1 (CRIFFA, Barcelona, España) en los diferentes experimentos llevados a cabo. A su llegada al animalario eran ratones adultos de 10 semanas de edad. Los sujetos fueron individualmente alojados durante 5 días para su habituación en cajas de plástico transparente de 24.5 x 24.5 x 15 cm de medida (PANLAB). La habitación donde residían se mantuvo durante todo el tiempo en condiciones estables, temperatura constante de 20°C ± 1, ciclo de luz-oscuridad de 12 horas (luz blanca de 20,00-8,00 en su hora local). El ciclo de luz-oscuridad fue invertido para asegurarse de que los animales fueran testados durante su fase activa (nocturna). Todo el procedimiento experimental se llevó a cabo bajo condiciones estables en una sala adyacente al animalario. Así mismo el acceso al pienso (PANLAB) y al agua por parte de los ratones fue *ad libitum* (menos en las ocasiones que hubo privación de agua y/o comida las cuales se especifican en otro apartado). Todo el procedimiento de manipulación animal se realizó de acuerdo con la Legislación de la Convención Europea para la Protección de los Animales Vertebrados Utilizados para Propósitos Experimentales y otros Propósitos Científicos (Estrasburgo, 18/02/1986).

2. PROCEDIMIENTO GENERAL.

Se realizaron cuatro experimentos diferentes utilizando dos modelos de estrés como modelos animales de depresión: el modelo de Estrés Social, mediante contacto sensorial, basado en una situación de experiencia de derrota continua (Kudryavtseva y cols., 1991a) y el modelo de Estrés Medio Crónico, basado en la

impredecibilidad de los diferentes estímulos estresantes aplicados (Monleon y cols., 1995; Willner y cols., 1987).

2.1. EXPERIMENTO 1. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL.

Los animales (n=48) después de un periodo 5 días de adaptación fueron divididos en 2 grupos homogéneos de acuerdo con su peso corporal. La mitad de los ratones (n=24) fueron sometidos a interacciones sociales diarias durante diez minutos, en los que sujetos experimentales intrusos (de menor peso) fueron introducidos en la caja (24.5 x 24.5 x 15 cm, PANLAB) de sujetos residentes (de mayor peso) dejándoles interactuar libremente con el objetivo de obtener sujetos subordinados. Posteriormente fueron sometidos a un procedimiento de contacto sensorial, en el que los sujetos subordinados fueron separados en la propia caja de los residentes mediante una estructura especial de metacrilato perforada de forma que ambos sujetos no accediesen el uno al otro física y directamente pero si mantuviesen contacto sensorial (figura M1, página 90).

Este procedimiento se repitió cada 24 horas a lo largo de 3 días sucesivos de forma que el estatus de dominancia-sumisión quedase completamente establecido para el 4º día (a partir del 4º día las interacciones sociales se redujeron a 5 minutos y todos los días se cambiaba al subordinado a una nueva caja habitada por un residente dominante diferente). Las interacciones tuvieron lugar siempre en la fase activa (nocturna) en una sala cercana al animalario. Los sujetos controles (n=24) fueron animales manipulados de forma idéntica a los experimentales pero sin contrincante (de forma que a lo largo de todo su tratamiento estaban separados de la otra media caja por un separador idéntico al empleado con los sujetos experimentales menos el intervalo de tiempo análogo a los experimentales en el cual podían deambular por toda la caja).

Este protocolo se aplicó cada 24 horas a lo largo de diferentes tiempos: 9 y 23 días tanto en los ratones experimentales como en los grupos control.

Después de 9 o 23 días de tratamiento, 12 sujetos de cada grupo (experimental y control) fueron sacrificados mediante dislocación cervical. Inmediatamente se practicó una punción cardiaca extrayendo la sangre (1 ml). Cada muestra de sangre se centrifugó a 1500 rpm durante 15 min a 4°C, se extrajo el suero, inmediatamente se congeló en nitrógeno líquido isopentano y

posteriormente se almacenó a -70°C para el posterior análisis de los niveles de corticosterona.

Los cerebros se extrajeron y se sustrajeron los hipotálamos congelándolos inmediatamente en nitrógeno líquido isopentano y se almacenaron a -70°C . Las muestras de tejido neurológico se analizaron posteriormente mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Los bazos también se extrajeron bajo condiciones de completa esterilidad para la determinación de la respuesta proliferativa de las células mononucleares estimuladas con mitógeno.

De la misma forma otro grupo de sujetos (grupo no manipulado, $n=12$) después de un periodo de 5 días de adaptación fueron alojados individualmente sin ningún tipo de tratamiento durante 9 días. Posteriormente fueron sacrificados y sus muestras se extrajeron y almacenaron de igual manera a la descrita anteriormente (figura M2, página 91).

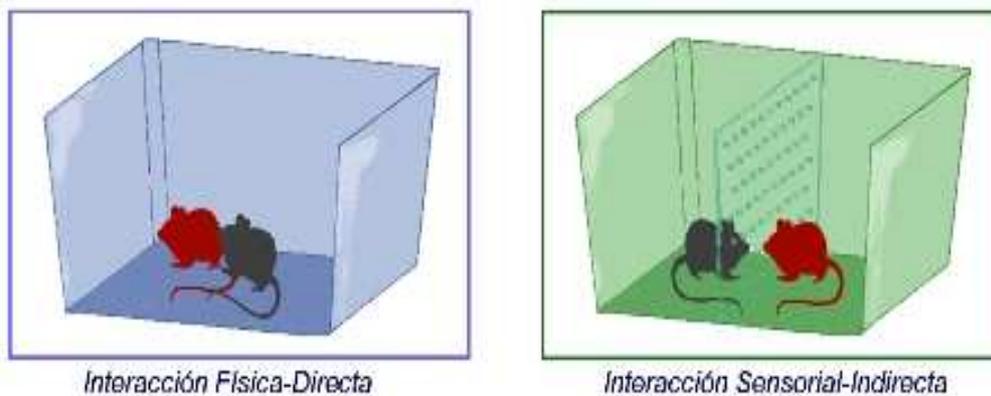
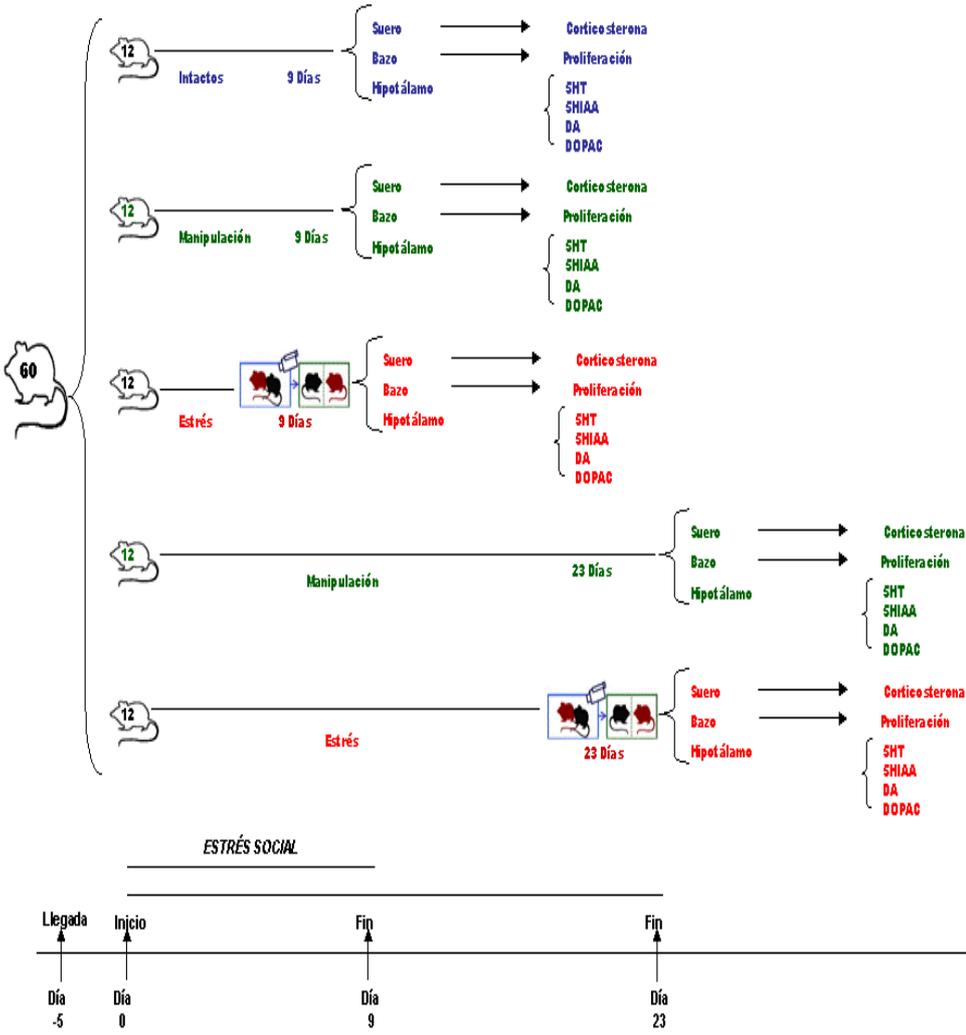


Figura M1. Representación de la interacción física directa y de la interacción sensorial indirecta entre el sujeto dominante (negro) y el sujeto sumiso (rojo).

Figura M2. Diseño experimental del experimento 1.

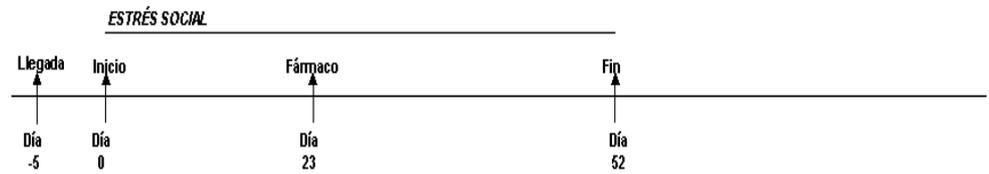
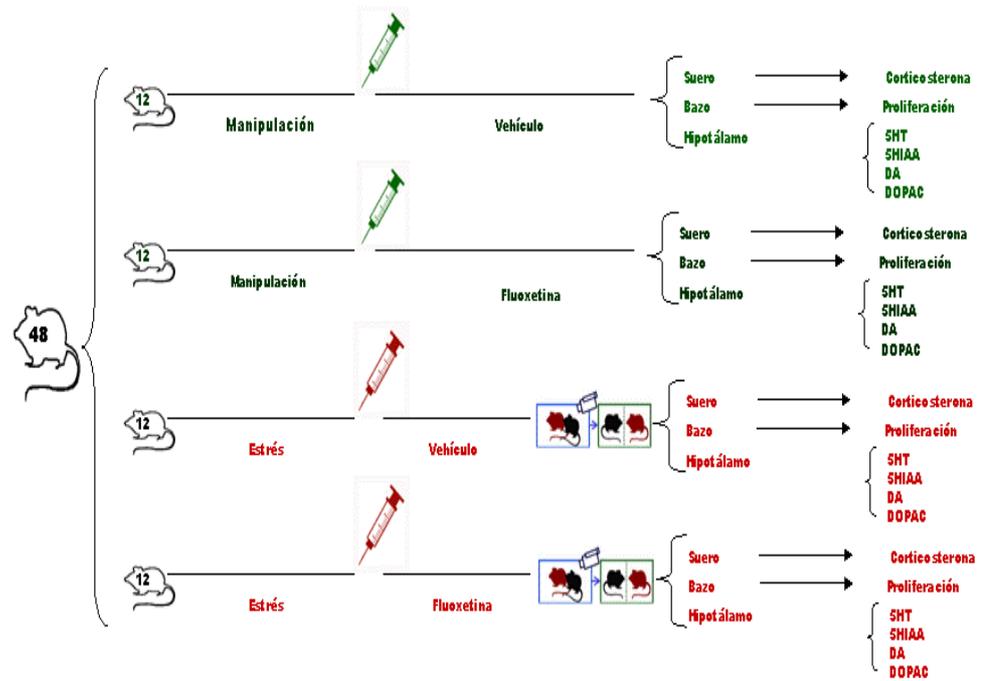


Representación del diseño experimental 1

2.2. EXPERIMENTO 2. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.

Los sujetos experimentales fueron sometidos a 23 días consecutivos de derrota y a contacto sensorial con un oponente dominante diferente. Posteriormente éstos (n=24) fueron divididos en dos grupos diferentes, uno (n=12) recibió tratamiento con fluoxetina y el otro grupo (n=12) fue tratado con vehículo, mientras las interacciones diarias continuaban durante 4 semanas más. El resto de animales del grupo control (n=24) fueron igualmente divididos en dos categorías de la misma forma que el grupo experimental. Tras 52 días de experimento fueron sacrificados 24 horas después de la última inyección y sus muestras biológicas se extrajeron de igual forma a la descrita anteriormente en el experimento 1 (figura M3, página 93).

Figura M3. Diseño experimental del experimento 2.



Representación del diseño experimental 2

2.3. EVALUACIÓN CONDUCTUAL DE LOS EXPERIMENTOS 1 Y 2.

La conducta de los sujetos experimentales en situación de interacción social con sus respectivos oponentes dominantes fue grabada durante 5 minutos mediante una videocámara (Panasonic RX66) el día anterior al sacrificio de los mismos. Las grabaciones de cada sujeto se evaluaron posteriormente utilizando un programa informático para la evaluación de la conducta THE OBSERVER 3.0 (NOLDUS. IT). Este programa nos permitió cuantificar el tiempo invertido por cada sujeto en cada una de las 9 categorías conductuales establecidas, basándonos en el etograma desarrollado por Brain (Brain, 1984), Kudryavtseva y cols. (Kudryavtseva y cols., 1991a) y Blanchard y cols. (Blanchard y cols., 1988).

Las categorías evaluadas fueron:

1. Postura de vigilancia extrema (PVE)
 - a- Observación inmóvil al oponente desde una distancia. El sujeto está inmóvil y vigila atento al oponente desde una distancia.

2. Inmovilidad
 - a- Agachado. El sujeto permanece inmóvil con las cuatro patas pegadas al suelo sin dirigir la atención al oponente.
 - b- Con la nariz pegada a una esquina. El ratón permanece inmóvil con su nariz pegada a una esquina de la caja.
 - c- Bípedo. El animal permanece inmóvil en posición bípeda sin dirigir la mirada al oponente.

2. Defensa activa.
 - a- Defensa lateral. El sujeto ante la cercanía del oponente adopta una posición tripedal lateral a éste, con los ojos abiertos y las orejas extendidas.
 - b- Defensa vertical. El sujeto ante la cercanía del oponente adopta una posición bípeda, con los ojos abiertos y las orejas extendidas.

3. Evitación
 - a- El sujeto gira el cuerpo, la cabeza y se vuelve de lado al acercarse el oponente.

4. Sumisión.
 - a- El sujeto adopta una posición bípeda con una total extensión corporal llevando la cabeza hacia atrás.

5. Huida
 - a- Salto. El ratón salta hacia otro lugar al aproximarse el oponente.
 - b- Retirada. El sujeto se aleja corriendo al acercarse el oponente o cuando este lo ataca.

6. Investigación social.
 - a- Andando encima. El sujeto pasa por encima del oponente, apoyando las patas delanteras sobre su lomo.
 - b- Andando debajo. El sujeto mete la cabeza y parte delantera del cuerpo por debajo del oponente.
 - c- Andando alrededor. El animal se mueve alrededor del oponente con la cabeza dirigida a este.
 - d- Seguimiento. El sujeto camina detrás del oponente mientras este se aleja.
 - e- Encuentro. Los ratones se encuentran de frente o lateralmente.
 - f- Aseo. El sujeto asea al oponente con su boca.
 - g- Olfateo. El sujeto olfatea al oponente.

7. Exploración no social.
 - a- Exploración dinámica. El sujeto deambula dirigiendo su atención hacia el ambiente físico.
 - b- Exploración sin deambulación. El sujeto en posición cuadrúpeda explora el ambiente, no al oponente, moviendo la cabeza de un lado a otro.
 - c- Erguido. El sujeto explora el ambiente físico en postura bípeda.

d- Erguido contra la pared. El sujeto explora el ambiente en postura bípeda pero con las patas delanteras apoyadas contra la pared.

8. Otros

a- Autoaseo. El sujeto se lame la piel de los flancos, del abdomen y el rabo.

b- Escarbar. El sujeto escarba sobre el sustrato.

2.4. EXPERIMENTO 3. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO.

Los animales (n=40) después de un periodo de 5 días de adaptación a las nuevas condiciones de estabulación fueron divididos en 2 grupos homogéneos de acuerdo con su peso corporal. La mitad de los sujetos (n=20) fueron sometidos al procedimiento de Estrés Medio Crónico (EMC) durante 1 semana (n=10) o durante 3 semanas (n=10) según el protocolo empleado por Monleon y col. (1995) en ratones, que consistió en:

1. Tres periodos de privación de agua y comida durante 3 horas.
2. Un periodo adicional de privación de agua durante 16 horas.
3. Dos periodos de continua iluminación en el periodo correspondiente a la oscuridad.
4. Dos periodos (7 y 17 horas) de inclinación de caja a 45°.
5. Un periodo de caja sucia (100 ml de agua vertida sobre el serrín) durante 17 horas.
6. Dos periodos (3 y 5 horas) de sonido intermitente (tono de 30 dB y 10 Kc/s). El tono era emitido durante 2 minutos continuos a intervalos irregulares por cada hora correspondiente a su periodo completo.
7. Tres periodos (7, 9 y 17 horas) de iluminación estroboscópica de baja intensidad (300 flashes/min).

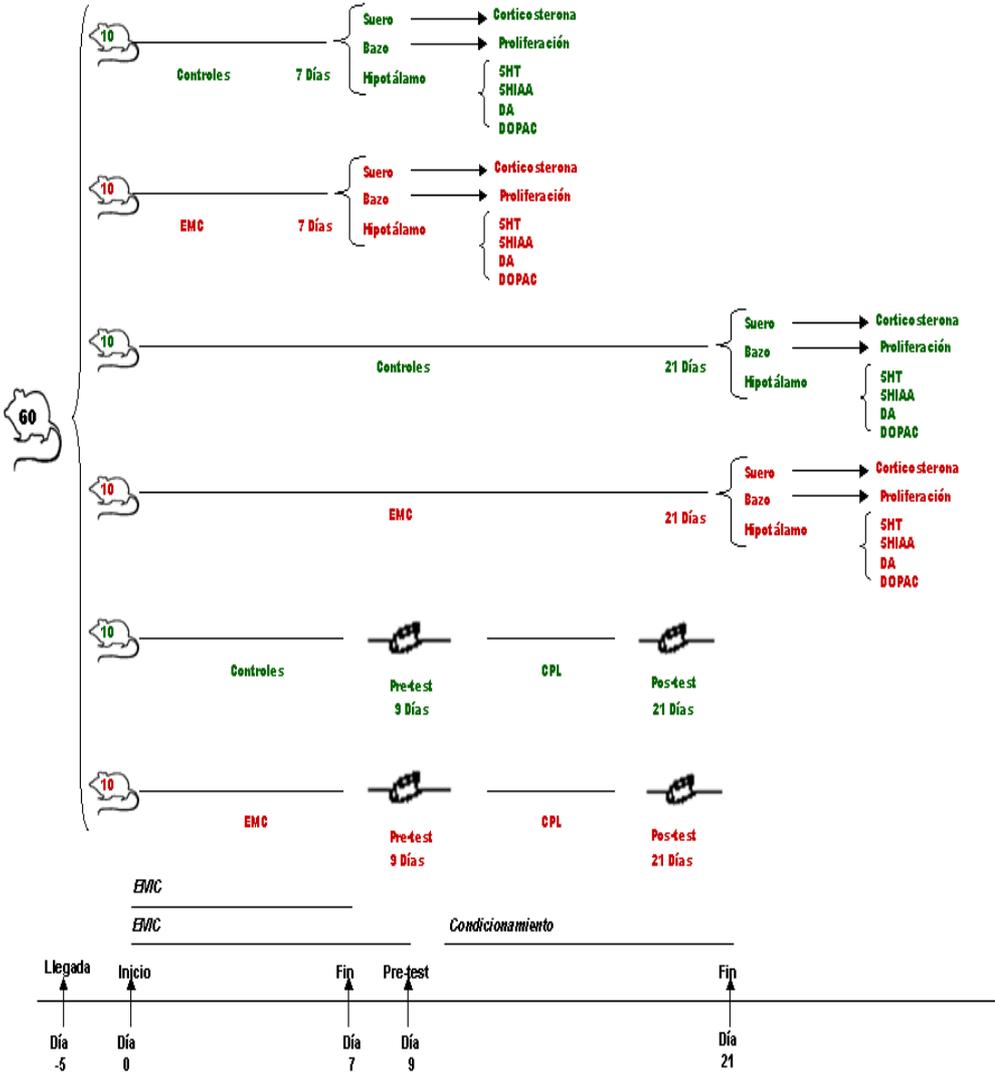
Todos los estímulos estresantes fueron aplicados a lo largo de 1 semana siendo repetidos en el caso del grupo sometido a EMC durante 3 semanas. Cada uno de los estímulos estresantes aplicados en el protocolo de EMC han sido clasificados de intensidad media de acuerdo con el Acta Animal de Procedimientos Científicos de 1986 (Legislación de UK).

Se utilizó un grupo control de animales para cada tiempo experimental, 1 semana (n=10) y 3 semanas (n=10). Los cuales se mantuvieron individualmente alojados durante estos periodos de tiempo. Después de 1 y 3 semanas los animales sometidos a EMC y sus controles fueron sacrificados por dislocación cervical.

Inmediatamente se practicó una punción cardiaca extrayendo la sangre (1 ml). Cada muestra de sangre se centrifugó a 1500 rpm durante 15 min a 4°C, se extrajo el suero, inmediatamente se congeló en nitrógeno líquido isopentano y posteriormente se almacenó a -70°C para el posterior análisis de los niveles de corticosterona.

Los cerebros se extrajeron para la obtención del hipotálamo que fue inmediatamente congelado en nitrógeno líquido isopentano y almacenado a -70°C. Las muestras de tejido neurológico se analizaron posteriormente mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Los bazos también se extrajeron bajo condiciones de completa esterilidad para la determinación de la respuesta proliferativa de las células mononucleares estimuladas con mitógeno (Figura M4, página 99).

Figura M4. Diseño experimental del experimento 3.

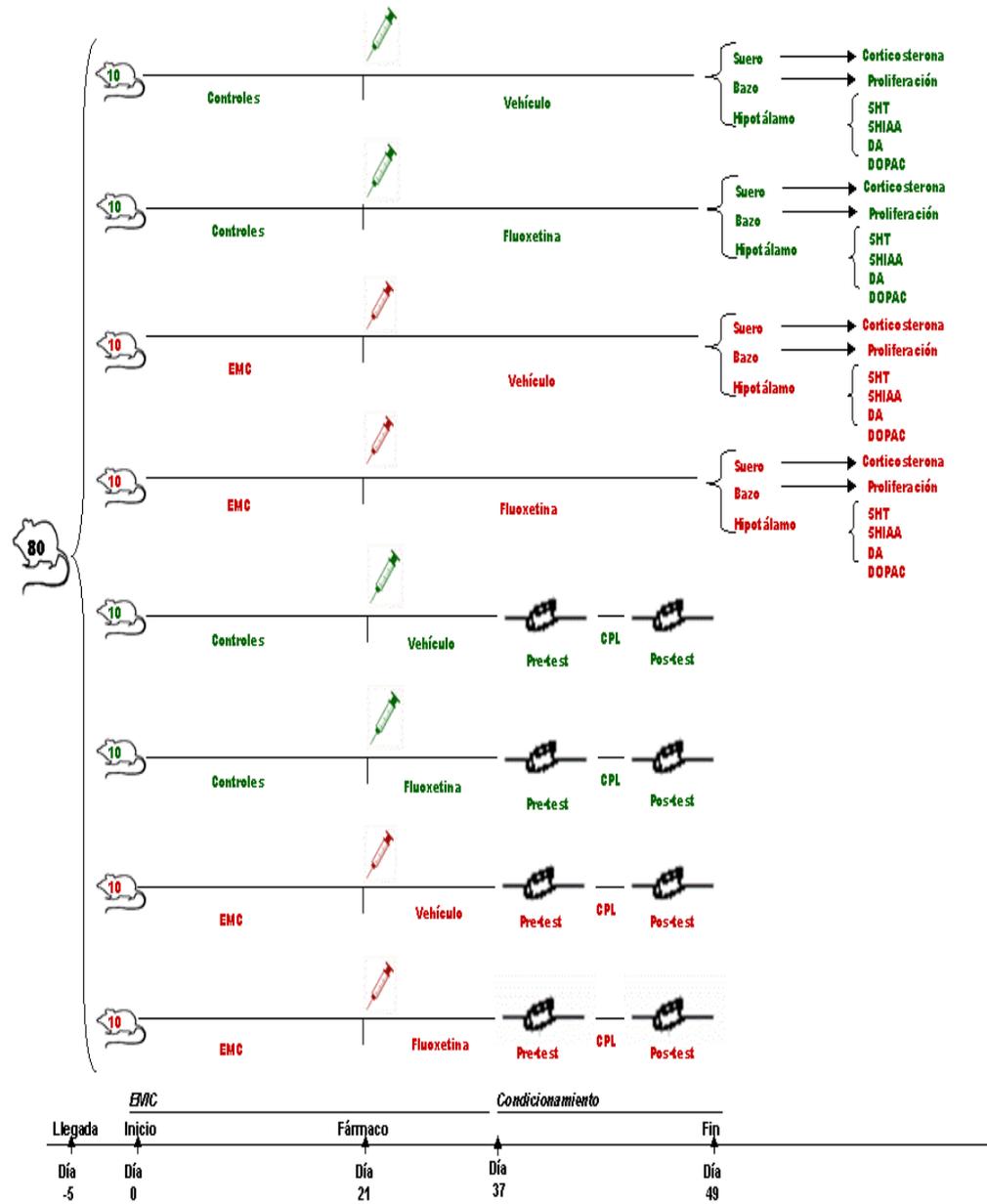


Representación del diseño experimental 3

2.5. EXPERIMENTO 4. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.

Los animales experimentales (n=20) tras tres semanas de exposición a Estrés Medio Crónico (EMC) fueron divididos en dos grupos diferentes, uno recibió tratamiento con fluoxetina (n=10) y el otro grupo vehículo (n=10), mientras el EMC continuaba durante 4 semanas. El resto de animales del grupo control (n=20) continuaron alojados individualmente durante un total de 7 semanas y divididos en dos grupos que recibieron fluoxetina (n=10) o vehículo (n=10) durante 4 semanas. Tras 7 semanas de experimento los animales (n=40) fueron sacrificados 24 horas después de la última inyección y sus muestras biológicas se extrajeron de igual manera a la descrita en el experimento 3 (Figura M5, página 101).

Figura M5. Diseño experimental del experimento 4.



2.6. PRUEBA DE CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA DE LUGAR DE LOS EXPERIMENTOS 3 Y 4.

Esta prueba se realizó a sujetos sometidos a 3 semanas de EMC (n=20) (Figura M4, página 99) y a sujetos sometidos a 7 semanas de EMC y tratamiento con fluoxetina o vehículo (n=40) (Figura M5, página 101), así como a sus respectivos controles.

Material utilizado.

Todo el procedimiento de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) se llevó a cabo en una caja de metacrilato de 43x30x15 cm en total, con dos compartimentos simétricos y opuestos de 15,5X30X15 cm cada uno, unidos por un pasillo de 12X11X15 cm. Los compartimentos eran de idénticas medidas pero en uno de éstos las paredes y el suelo eran completamente de color negro y el suelo estaba revestido de goma, mientras que en el otro compartimiento las paredes y el suelo eran completamente de color blanco y el suelo era de metacrilato. La caja llevaba una tapa transparente y agujereada del mismo material que cubría todo el laberinto para impedir que los sujetos escaparan o se distrajesen con el ambiente exterior pero a su vez pudieran respirar a través de los agujeros y se pudiese observar el interior de ésta. El pasillo ubicado en la mitad de los dos compartimentos unía éstos pero quedaba separado por dos puertas en guillotina de metacrilato que permitían la entrada o el aislamiento de los compartimentos.

Para el registro de la prueba se empleó una videocámara (Panasonic RX66) y para la evaluación conductual se utilizó un programa informático THE OBSERVER 3.0 (NOLDUS. IT) que nos permitió registrar el tiempo que pasaban los sujetos en cada uno de los compartimentos.

Como estímulo reforzante se utilizó la comida habitual de los animales (PANLAB).

Procedimiento del condicionamiento de preferencia de lugar.

El protocolo de prueba de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) se realizó durante 12 días consecutivos en una habitación silenciosa cercana al animalario entre las 12,00-14,00 horas (periodo de oscuridad invertido en el animalario, horario activo). La prueba de CPL consistió en una primera fase de exposición con 3 días de duración. Una segunda fase de condicionamiento con 8 días de duración y una tercera fase de evaluación post-test de un día.

Fase de periodo de exposición. Tras 9 días de aplicación de EMC (n=10) o alojamiento individual (n=10), los sujetos fueron expuestos al test de CPL durante un total de 12 días. El test comienza con un periodo de exposición libre por el laberinto que dura 10 minutos cada día durante 3 días.

El primer día de protocolo se les acomodó individualmente en el pasillo intermedio de la caja y se les permitió el libre acceso a toda la caja durante 10 minutos. El segundo y tercer día de prueba se procedió de manera exacta al primer día pero el tercer día se filmó por videocámara individualmente a cada sujeto durante todo el tiempo de exposición libre por la caja. Posteriormente se evaluó el tiempo total que pasaban en cada uno de los compartimentos mediante un programa informático THE OBSERVER 3.0 (NOLDUS. IT) para conocer en que compartimento emplearon menos tiempo (fase **pre-test**). Se eligió el compartimento en el cual dedicaba menos tiempo cada individuo (fase que denominamos **pre-test**, que es el tiempo de estancia en el compartimento “menos preferido”) como el lugar en el cual se iba a proceder al condicionamiento del lugar mediante el refuerzo a lo largo de las diferentes exposiciones.

Fase de condicionamiento. Consistió en situar al sujeto de forma alterna en cada uno de los compartimentos durante 30 minutos cada día durante 8 días

consecutivos. Los días 1,3,5 y 7 se situó al sujeto en el compartimento de la caja en el que invirtió menos tiempo en la fase **pre-test** y en el cual se ponía el refuerzo (comida). Los días 2,4,6 y 8 se alojaba al sujeto sin refuerzo en el compartimento que inicialmente (fase **pre-test**) dedicó más tiempo. Todos los animales fueron privados de alimento las 20 horas previas al ensayo y no se restableció la toma de alimento hasta una hora después del ensayo de condicionamiento, de forma que no asociasen cualquiera de los compartimentos de la caja con la obtención del refuerzo. Todos los ensayos se efectuaron de manera exacta, el sujeto era depositado en el pasillo central y solo se le permitía el acceso al compartimento que ese día estaba establecido, cerrando de nuevo el pasillo. El último día de ensayo, una hora después de la finalización de este se restableció el libre acceso a la comida en las cajas que residían los ratones.

Fase post-test. Tras los 8 días de condicionamiento y 24 horas después del último ensayo se registró el tiempo invertido por los sujetos en cada uno de los compartimentos en ausencia de refuerzo. Tras situar al animal en el pasillo central de la caja se le permitió la libre deambulacion durante 10 minutos mientras se le grabó por videocámara.

Fase de evaluación del condicionamiento de preferencia de lugar. Mediante la utilización del programa de evaluación conductual THE OBSERVER 3.0 (NOLDUS. IT) se evaluó el tiempo que cada sujeto pasaba en la fase **post-test**. Posteriormente se compararon los 2 registros de tiempo invertido en cada uno de los compartimentos en la fase **pre-test** y **post-test** entre los sujetos experimentales y controles mediante el programa estadístico SPSS 11.0.1 de Windows (SPSS Inc., USA).

Este mismo procedimiento de CPL se utilizó en animales que fueron expuestos a 7 semanas de EMC o alojamiento individual y recibieron tratamiento de fluoxetina o vehículo durante 4 semanas. El protocolo de la prueba de CPL se comenzó a aplicar tras 37 días de experimento, 12 días antes de la finalización del mismo.

3. FÁRMACO.

Se empleó Fluoxetina Hidroclorida (Sigma-Aldrich, Madrid, España) que fue disuelta en una solución salina fisiológica (Grifols, Barcelona, España), la cual también se empleo como sustancia vehículo. Todas las inyecciones se administraron intraperitonealmente en un volumen de 10 ml por kg de peso corporal. La dosis administrada fue de 5mg/kg por día, administrada en una única inyección entre las 12:00-14:00 horas.

4. ESTUDIO DE LA CAPACIDAD PROLIFERATIVA DE LAS CÉLULAS MONONUCLEARES DEL BAZO.

4.1. Aislamiento y cultivo de las células mononucleares.

Los bazos se extrajeron en el interior de una campana de flujo laminar (BC100. Cultair S. L., Madrid, España) bajo condiciones de completa esterilidad y se disgregaron sobre una malla esterilizada de acero inoxidable de 50 µm de porosidad (Sigma, Madrid, España). Cada muestra disgregada fue resuspendida en 10 ml de medio celular (RPMI-1640. Sigma-Aldrich, Madrid, España) y estas centrifugadas (modelo CR4-12. Jouan, Saint Herblain, Francia) durante 5 minutos a 1500 rpm a 4°C. Posteriormente el pellet obtenido de cada muestra es resuspendido en 3 ml de medio celular y depositado con sumo cuidado sobre 3 ml de Ficoll-Paque (Pharmacia-Biotech, Barcelona, España) a temperatura ambiente. Las muestras se centrifugan durante 30 minutos a 2000 rpm a 21°C. El Ficoll-Paque permite separar las células polimorfonucleares, los eritrocitos y las células muertas de las células mononucleares. Así después de la centrifugación, podemos encontrar las células mononucleares en la interfase entre el Ficoll-Paque y el medio celular, mientras que los eritrocitos, las células polimorfonucleares y las células muertas se depositan en el pellet. Ulteriormente se extrae la interfase de cada muestra y se resuspende en 3ml de medio celular y estas son centrifugadas

durante 5 minutos a 1500 rpm a 4°C extrayéndose los pellets de cada muestra y se resuspenden en 3 ml de medio celular para así de nuevo centrifugarlas durante 5 minutos a 1500 rpm a 4°C. Esta operación de lavado celular se repite una vez mas de manera que las células mononucleares queden exentas de cualquier resto de Ficoll-Paque. Completada esta fase de lavado se extrae el sobrenadante y el substrato para resuspenderlo en 5 ml de medio celular suplementado al 10% con suero bovino fetal (SBF) (Gibco, Life-Technologies, Inc., Gaithersburg, MD., EE.UU.).

Una vez realizado el recuento y viabilidad celular se ajustan las concentraciones de cada muestra a $2,5 \times 10^6$ células/ml.

Para la determinación del recuento y la viabilidad celular se utilizó un microscopio invertido CK2 (Olympus, Hamburgo, Alemania) y una cámara cuentaglóbulos Burkler (Brand, Wertheim/Main, Alemania) que contiene un área cuadrículada estándar. Una pequeña cantidad de muestra es situada en la cámara y el número de células es contado. Mediante una sencilla fórmula se determina el número total de células en la muestra. Para determinar la viabilidad celular esta pequeña muestra es mezclada con azul tripán (Sigma-Aldrich, Madrid, España), ya que las células con la membrana intacta son impermeables a esta tinción. Se procede al recuento de las células no teñidas (viables), debiendo ser siempre mayor del 80% de células totales de la muestra.

Para la realización del cultivo de las células mononucleares esplénicas, previamente se depositaron en una placa Falcon de 96 pocillos (Beckton-Dickinson, Meylan, Francia) 100 µl compuestos de RPMI-1640 y SBF (10%) como sustrato celular, añadiendo en 5 pocillos por cada muestra el mitógeno Concanavalina-A (Con-A, lectina de *Concanavalina ensimorfis*. Sigma-Aldrich, Madrid, España) (5µg/ml), el mitógeno Fitohemaglutinina (PHA, lectina de *Phaseolus vulgaris agglutinin*. Sigma-Aldrich, Madrid, España) (6,5 µg/ml) y en otros 5 pocillos únicamente el medio celular con el SBF. En total cada muestra fue sembrada en 15 pocillos.

Posteriormente todas las muestras se introducen en una estufa de cultivo (IG-150. Jouan, saint Herblain, Francia) a 37°C y un 5% de CO₂.

4.2. Determinación de la capacidad proliferativa de las células mononucleares del bazo.

La determinación de la capacidad proliferativa de las células mononucleares del bazo se llevó a cabo mediante el uso de un kit de proliferación celular II XTT (Boheringer-Mannheim, Barcelona, España). Este kit de ensayo de proliferación celular es de tipo colorimétrico, no radiactivo, y se basa en la conversión colorimétrica debida a la degradación de las sales de XTT (ácido sulfónico de sodio 3'-[1-(fenilaminocarbonil)-3, 4 tetrazolio]-bis (4-metoxi-6-nitro)) a sales de formazan. La conversión del XTT al compuesto de formazán de tinte naranja solo ocurre en las células vivas. El compuesto de formazán naranja es soluble en soluciones acuosas y directamente cuantificable utilizando un lector espectrofotométrico.

Después de 72 horas de incubación se sacaron las placas con las muestras, se llevaron a la campana de flujo laminar y se añadieron 100 µl/pocillo del compuesto de XTT y se resuspendieron. Las placas fueron introducidas de nuevo en la incubadora durante 20 horas. Finalizado este periodo las placas se sacaron y se procedió a la lectura en un lector de placas colorimétrico Elx800 (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VE., EE.UU.), con un filtro de absorbancia de 490 nm de longitud de onda y un filtro de referencia de 720 nm.

Para la determinación de la capacidad proliferativa de las células bajo estimulación con cualquiera de los 2 mitógenos, los datos se expresaron utilizando un índice de proliferación calculado de la siguiente forma:

Densidad óptica media del mitógeno/ Densidad óptica media sin estimulación mitógena.

5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DOPAMINÉRGICA Y SEROTONINÉRGICA EN EL HIPOTÁLAMO.

La determinación de la actividad dopaminérgica y serotoninérgica en el hipotálamo, se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siguiendo el método descrito por Esteban y cols. (Esteban y cols., 1996).

5.1. Preparación de las muestras.

Las muestras de tejido hipotalámico se descongelaron a temperatura ambiente, se pesaron en una balanza analítica AG204 (Mettler, Toledo, España) y fueron homogeneizadas en 1ml de solución tampón (agua Milli-Q, 0.27 mM K₂EDTA, 5.26 mM Na₂S₂O₅ y 9,14 M HClO₄), durante 15 segundos, a 20.000 rpm, en un homogenizador-dispersador eléctrico DIAx 600 (Heidolph Elektro & Co.). A continuación se centrifugó el homogeneizado durante 15 minutos a 40.000 g a 4°C (Sorvall RC-5B; rotor SM-24), y se filtró con una filtro de membrana de teflón de 0.45 µm (Sigma, Madrid, España).

5.2. Análisis Cromatográfico.

Las muestras fueron inyectadas en alícuotas de 100 µl en un equipo de HPLC (Hewlett Packard 1100 system) empleando una columna Agilent Zorbax SB-C18 y una solución de fase móvil (agua Milli-Q, 0.1 M KH₂PO₄, 2.1 mM ácido sulfónico octano, 0.1 mM K₂EDTA y 10% v/v de metanol) a un flujo constante de 1 ml/min y a una temperatura constante de 35°C.

La cuantificación de monoaminas y sus metabolitos se realizó mediante un detector electroquímico HP 1049A, aplicando un potencial de 0.70 V.

Los datos fueron analizados mediante el software de Hewlett Packard ChemStation empleando una curva de calibrado establecida previamente para cada una de las monoaminas y metabolitos analizados, corrigiendo el nivel de la

curva de calibrado cada 10 muestras con el fin de controlar cualquier modificación ambiental.

6. DETERMINACIÓN DE CORTICOSTERONA EN SUERO SANGUÍNEO.

Para la determinación del nivel de corticosterona en suero sanguíneo se empleó un kit de análisis de radioinmunoensayo (RIA) (ICN. Costa Mesa, California, EEUU), un tipo de radioinmunoanálisis de competencia. Este tipo de análisis se basa en la competición entre dos ligandos por la unión específica a un anticuerpo. Los ligandos suelen ser la hormona u otra sustancia a determinar y su homóloga marcada con un elemento radiactivo. De este modo, cuanto mayor sea la cantidad de hormona presente en la muestra, menor será la cantidad de hormona marcada que se ligue al anticuerpo. Tras incubar la solución compuesta por una determinada cantidad de muestra, una cantidad fija de hormona marcada y un anticuerpo, se elimina el sobrenadante y se mide el nivel de radioactividad del precipitado. Este último es una medida indirecta e inversamente proporcional a la concentración de la hormona presente en la muestra.

6.1. Procedimiento de radioinmunoensayo.

En primer lugar, todos los reactivos y muestras a emplear en el ensayo se llevan a temperatura ambiente. A continuación se prepara el control para la determinación del nivel de unión no específica, dispensando 0,3 ml de medio diluyente por tubo. Para la elaboración de la curva patrón se preparan los siete calibradores, disponiendo en 14 tubos de vidrio 100 µl de las diluciones estándar incluidas en el ensayo (1000, 500, 250, 100, 50, 25, 0 ng/ml). Para el calibrador de 0 ng/ml se disponen 100 µl de medio diluyente. Se preparan también, dos controles (alto y bajo) añadiendo 100 µl de las concentraciones control incluidas

en el kit. Por último, se toman 10 µl de cada muestra. Se diluyen 2 ml de medio diluyente y se dispensan 500 µl de esta dilución en cada tubo.

Una vez preparadas las muestras, los calibradores y los controles, en cada tubo se añaden 200 µl de dilución de corticosterona marcada con I¹²⁵. A continuación en todos los tubos excepto en los correspondientes al control de unión no específica, se añaden 200 µl de antisuero. Se agita cada tubo por medio de un agitador para tubos y se dejan incubar durante dos horas a temperatura ambiente.

Tras la incubación se añaden 500 µl de la solución precipitante incluida en el kit. Esta solución está compuesta por una mezcla de PEG e IgG de cabra-anticonejo en tampón fosfato. Se agita cada tubo y se centrifugan a 1000 g durante 15 minutos.

Se evalúa el nivel de radioactividad del precipitado en un contador de centelleo (Gamma counting 5500 System, Beckman Instruments, Bioanalytical Systems Group, Fullerton, California, EEUU). El formato de los datos emitidos por el aparato (cuentas por minuto) ha de ser transformado para conseguir los datos en forma de ng/ml de corticosterona.

Para la transformación de los datos directos, previamente se obtienen las medias de todos los tubos duplicados. A estas medias se les sustrae la media del control de unión no específica (UNE), con lo que se obtienen los valores corregidos. Cada valor corregido es dividido por el valor corregido del calibrador correspondiente a la concentración de 0 ng/ml y posteriormente es multiplicado por 100. Los datos así obtenidos representan el porcentaje de unión específica de cada muestra.

$$\% \text{ Unión específica} = \frac{\text{CPM (muestra)} - \text{CPM (unión no específica)}}{\text{CPM (calibrador 0 ng/ml)} - \text{CPM (unión no específica)}} \times 100$$

Con los porcentajes de unión específica de los calibradores incluidos en el kit se elabora la curva patrón de la que se extrae en ng/ml la concentración presente en cada muestra con la ayuda del programa Graphpad Prism 3.00 para Windows.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El efecto del Estrés Social (experimento 1) sobre las conductas manifestadas por los sujetos socialmente estresados se analizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor, en el que se consideró el factor estrés (estrés social, control manipulado y control no manipulado). El análisis de las variables biológicas, se realizó mediante un ANOVA de un factor, en el que se consideró el factor estrés, en el caso de los sujetos sometidos a 9 días de estrés social. También se realizó un ANOVA de dos factores, en el que se consideraron el factor estrés, el factor tiempo y la interacción entre ambos factores, en los sujetos sometidos a 9 y 23 días de estrés social.

El efecto del Estrés Social y del tratamiento con fluoxetina (experimento 2) sobre las conductas manifestadas por los sujetos socialmente estresados se analizó mediante un ANOVA de un factor, en el que se consideró el factor tratamiento farmacológico. El análisis de las variables biológicas, se realizó mediante un ANOVA de dos factores, en el que se consideraron el factor estrés, el factor tratamiento farmacológico y la interacción entre ambos factores.

El efecto del Estrés Medio Crónico (experimento 3) sobre la conducta manifestada en la prueba de CPL se analizó en el grupo de 3 semanas de tratamiento mediante un ANOVA de medidas repetidas de un factor, en el que se consideró el factor estrés. El análisis de las variables biológicas, se realizó mediante un ANOVA de dos factores en el que se consideraron el factor estrés, el factor tiempo y la interacción entre ambos factores.

El efecto del Estrés Medio Crónico y del tratamiento con fluoxetina (experimento 4) sobre la conducta manifestada en la prueba de CPL se analizó mediante un ANOVA de medidas repetidas considerando dos factores, el factor estrés, el tratamiento farmacológico y la interacción entre ambos. El análisis de las variables biológicas, se realizó mediante un ANOVA de dos factores en el que se consideraron el factor estrés, el factor tratamiento farmacológico y la interacción entre ambos factores.

Para un análisis más pormenorizado de los efectos significativos observados en los ANOVAS se realizaron análisis *post hoc* de Bonferroni. Se realizaron análisis de regresión por pasos para determinar la mediación de la actividad monoaminérgica en los efectos del estrés sobre la capacidad proliferativa de las células mononucleares. Los niveles de significación para todos los análisis realizados fueron de $p \leq 0.05$. Todos los estadísticos fueron calculados con el programa SPSS 11.0.1 de Windows (SPSS Inc., EEUU).

RESULTADOS

IV. RESULTADOS.

1. EXPERIMENTO 1. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL.

1.1. Estrés Social y conducta.

El análisis conductual en los sujetos sometidos a estrés social (ES) muestra que los ratones expuestos a nueve derrotas emplean mayor porcentaje de tiempo en la conducta de “postura de vigilancia extrema” (PVE) que los sujetos sometidos a veintitrés derrotas consecutivas ($F(1, 20) = 5,56, p \leq 0,03$). Se observó una reducción del porcentaje de tiempo dedicado a la conducta de defensa activa en los ratones sometidos a nueve derrotas ($F(1, 20) = 4,65, p \leq 0,05$). No se encontraron diferencias entre los dos grupos en las demás categorías conductuales registradas (figura 1).

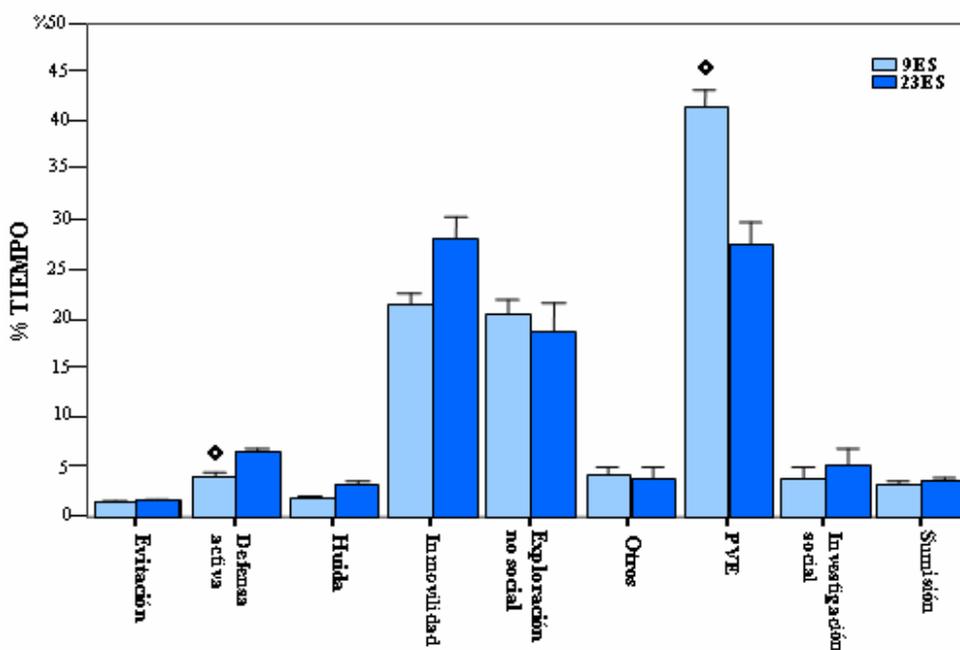


Figura 1. Porcentaje medio (\pm E.E.M.) de tiempo dedicado a cada una de las categorías conductuales en interacción social, de un total de 5 minutos registrados, en los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente). \blacklozenge ($p \leq 0,05$).

1.2. Estrés Social y sistema inmunitario.

Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina-A (Con-A).

El análisis de los datos correspondiente al periodo de nueve días de estrés social y su efecto sobre el índice de proliferación linfocítica (IP) cuando se utilizó Con-A como antígeno mostró un efecto significativo del factor estrés ($F(2, 29) = 5,19, p \leq 0,02$). El grupo sometido a estrés social presentó un menor IP que el grupo control no manipulado ($p \leq 0,01$). No se observaron diferencias significativas con el grupo control manipulado (**figura 2**).

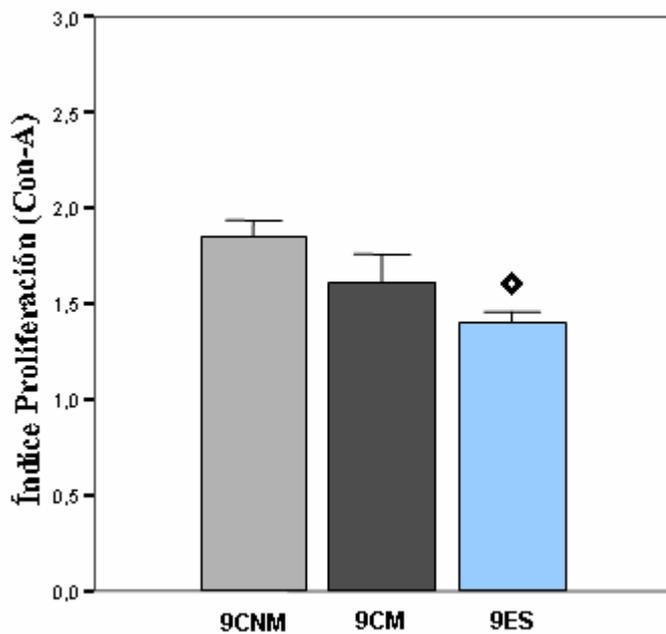


Figura 2. Índices de proliferación (IP) medios (\pm E.E.M.) cuando se utilizó Con-A del grupo sometido durante 9 días a estrés social (9ES), el grupo control manipulado durante 9 días (9CM) y el grupo control no manipulado durante 9 días (9CNM). \blacklozenge 9ES < 9CNM ($p \leq 0,01$).

Cuando se comparó el IP en los grupos sometidos a nueve y veintitrés días de estrés social y sus respectivos grupos controles, se observó un efecto significativo del

estrés ($F(1, 35) = 22,01, p \leq 0,0001$) y del tiempo ($F(1, 35) = 54,04, p \leq 0,0001$), así como de la interacción de ambos factores ($F(1, 35) = 7,55, p \leq 0,01$). Los análisis *post-hoc* mostraron un menor IP en el grupo expuesto a nueve derrotas respecto al grupo sometido a veintitrés derrotas consecutivas ($p \leq 0,02$). El grupo control manipulado durante veintitrés días mostró mayor IP que todos los demás grupos ($p \leq 0,0001$ en todos los casos) (figura 3).

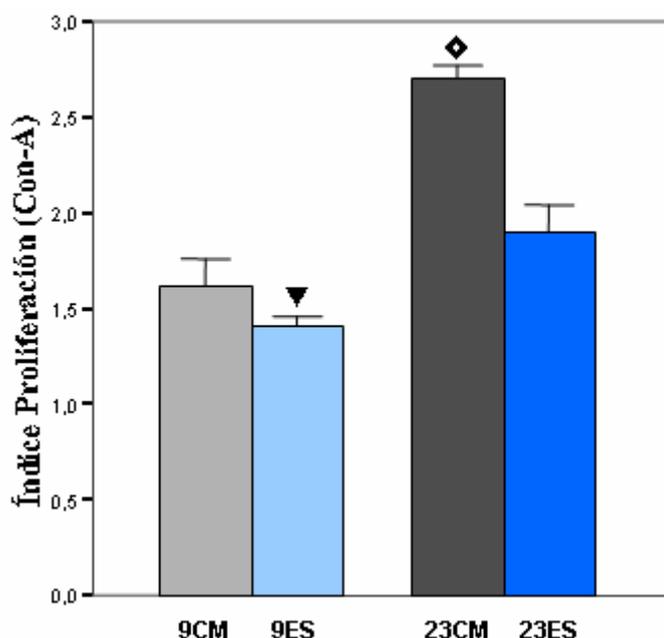


Figura 3. Índices de proliferación (IP) medios (\pm E.E.M.) cuando se utilizó Con-A de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente).

▼ 9ES < 23ES ($p \leq 0,05$). ◆ 23CM > Todos los grupos ($p \leq 0,001$).

Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitohemaglutinina (PHA).

No se observó un efecto significativo del factor estrés sobre el IP cuando se utilizó PHA como antígeno en ninguno de los grupos de nueve días de tratamiento.

Cuando se comparó el IP en los grupos de nueve y veintitrés días de tratamiento, se observó un efecto significativo del factor estrés ($F(1, 38) = 8,13, p \leq 0,01$) y del factor tiempo ($F(1, 38) = 24,54, p \leq 0,0001$), así como de la interacción entre ambos factores ($F(1, 38) = 3,88, p \leq 0,05$). Los análisis *post-hoc* mostraron un mayor IP en el grupo control manipulado durante veintitrés días respecto al grupo control manipulado durante nueve días ($p \leq 0,0001$) y los grupos sometidos a estrés social durante nueve derrotas ($p \leq 0,0001$) y veintitrés derrotas ($p \leq 0,01$), (**figura 4**).

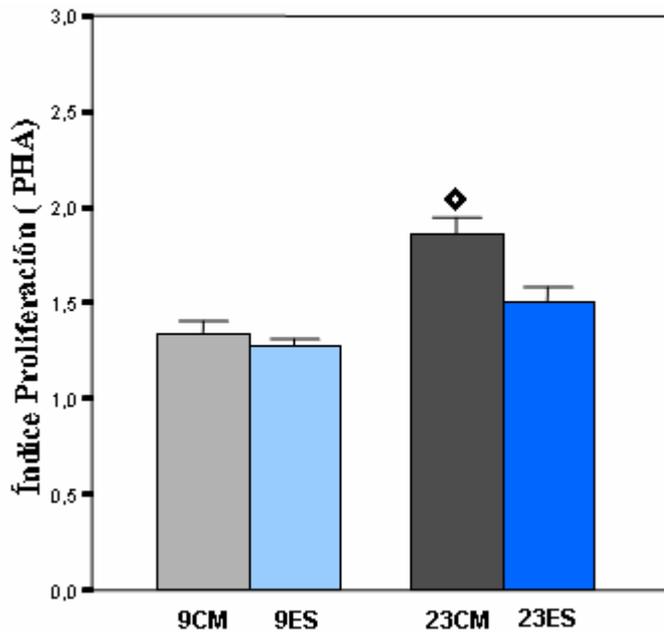


Figura 4. Índices de proliferación (IP) medios (\pm E.E.M.) cuando se utilizó PHA de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente).

◆ 23CM > 23ES ($p \leq 0,01$), 9CM y 9ES ($p \leq 0,001$ en ambos grupos).

1.3. Estrés Social y actividad monoaminérgica hipotalámica.

Actividad serotoninérgica, niveles de 5-HIAA y 5-HT en hipotálamo.

El análisis de la actividad serotoninérgica (ratio 5-HIAA/5-HT) en los grupos de nueve días de tratamiento mostró un efecto significativo del factor estrés ($F(2, 23) = 20,64, p \leq 0,0001$). Los análisis *post hoc* indicaron que el grupo socialmente estresado presenta un ratio de serotonina mayor que los grupos control manipulado y no manipulado ($p \leq 0,0001$ en ambos casos) (figura 5).

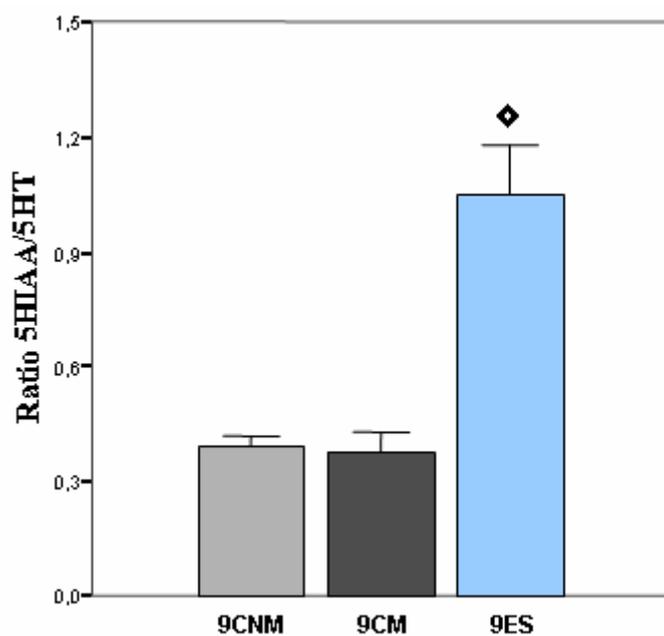


Figura 5. Medias (\pm E.E.M.) del ratio 5HIAA/5HT en hipotálamo de los sujetos sometidos durante 9 días a estrés social (9ES), el grupo control manipulado durante 9 días (9CM) y el control no manipulado del mismo periodo de tiempo (9CNM). \blacklozenge 9ES > 9CM y 9CNM ($p \leq 0,0001$).

También se observó un efecto significativo del factor estrés cuando se estudiaron los niveles de 5-HIAA ($F(2, 25) = 9,04, p \leq 0,001$). Los análisis *post hoc* mostraron que el grupo socialmente estresado presentó mayores niveles de este metabolito respecto al grupo control manipulado ($p \leq 0,001$) (**figura 6**).

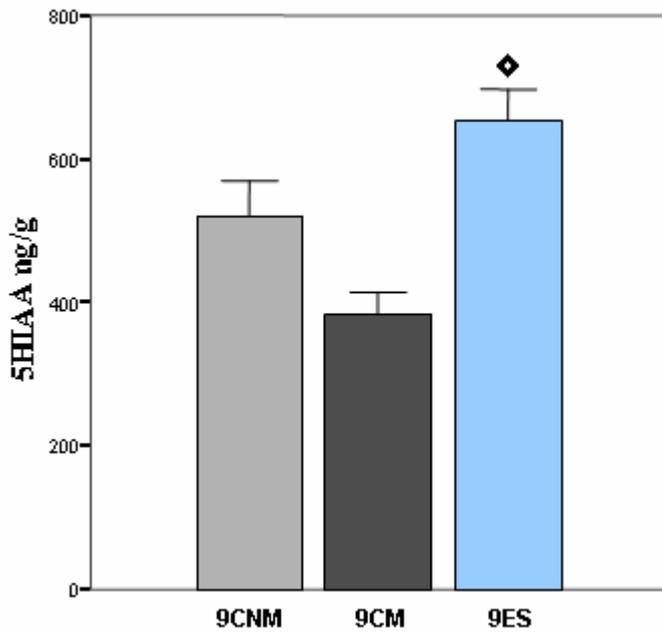


Figura 6. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HIAA (ng/g de tejido hipotalámico) del grupo sometido durante 9 días a estrés social (9ES), el grupo control manipulado durante 9 días (9CM) y control no manipulado del mismo periodo de tiempo (9CNM). \blacklozenge 9ES > 9CM ($p \leq 0,001$).

Igualmente, se encontró un efecto significativo del factor estrés cuando se estudiaron los niveles de serotonina ($F(2, 24) = 7,51, p \leq 0,01$). Los análisis *post hoc* indicaron que el grupo socialmente estresado presentaba menores niveles de este neurotransmisor que el grupo control no manipulado ($p \leq 0,01$) (**figura 7**).

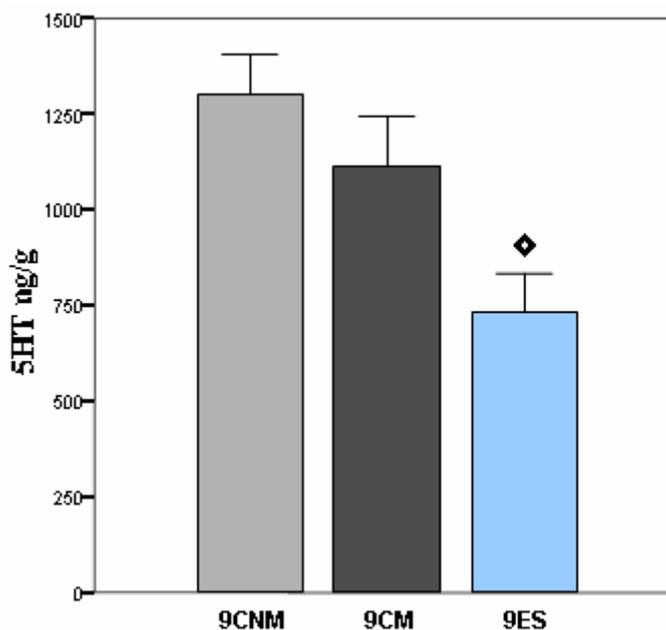


Figura 7. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HT (ng/g de tejido hipotalámico) del grupo sometido durante 9 días a estrés social (9ES), el grupo control manipulado durante 9 días (9CM) y el control no manipulados del mismo período de tiempo (9CNM). \blacklozenge 9ES < 9CNM ($p \leq 0,01$).

Cuando se comparó la actividad serotoninérgica (ratio 5-HIAA/5-HT) de los grupos de nueve y veintitrés días de tratamiento, el estrés ($F(1, 30) = 19,38$, $p \leq 0,0001$), el tiempo ($F(1, 30) = 36,80$, $p \leq 0,0001$) y la interacción entre ambos factores ($F(1, 30) = 19,97$, $p \leq 0,0001$) fueron significativos. Los análisis *post hoc* mostraron que el grupo sometido a nueve días de estrés social presentó mayor actividad serotoninérgica que el resto de los grupos ($p \leq 0,0001$ en todos los casos) (figura 8).

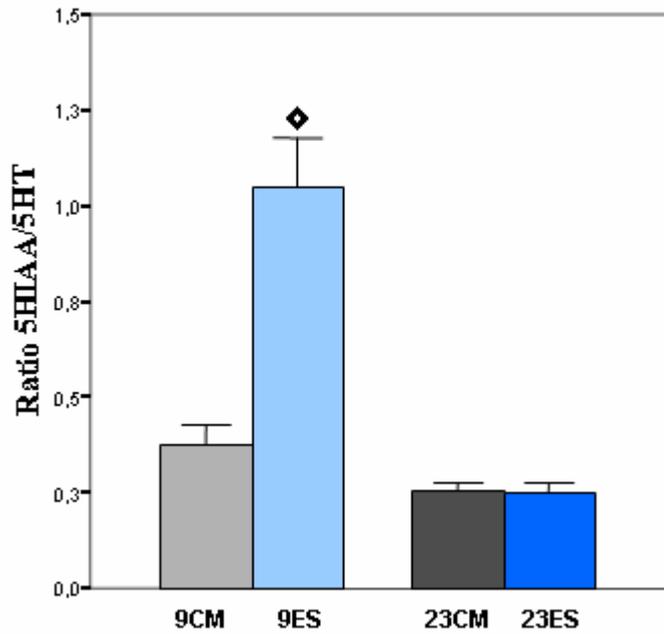


Figura 8. Medias (\pm E.E.M.) del ratio 5HIAA/5HT en hipotálamo de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente). \blacklozenge 9ES > Todos los grupos ($p \leq 0,001$ en todos los casos).

Cuando se analizaron los niveles de 5-HIAA, el factor estrés ($F(1, 31) = 12,71$, $p \leq 0,001$), el factor tiempo ($F(1, 31) = 13,34$, $p \leq 0,001$) y la interacción entre ambos factores ($F(1, 31) = 6,13$, $p \leq 0,02$) fueron significativos. Los análisis *post hoc* indicaron que de nuevo el grupo sometido a nueve días de estrés social presentó mayores niveles de este metabolito que el grupo control manipulado durante nueve y veintitrés días y que el grupo socialmente estresado durante veintitrés días ($p \leq 0,001$ en todos los casos) (**figura 9**).

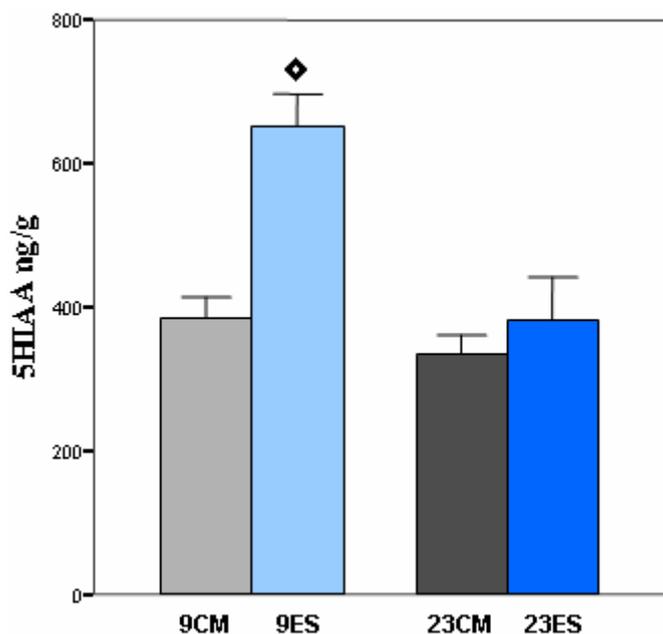


Figura 9. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HIAA (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente). \blacklozenge 9ES > Todos los grupos ($p \leq 0,001$ en todos los casos).

El análisis de los niveles hipotalámicos de 5HT mostró un efecto significativo tanto del factor estrés ($F(1, 33) = 3,94, p \leq 0,05$) como del factor tiempo ($F(1, 33) = 15,25, p \leq 0,0001$). Los grupos sometidos a estrés social durante nueve y veintitrés días mostraron menores niveles de 5-HT que los grupos control manipulados durante nueve y veintitrés días. Además, los grupos que recibieron nueve días de tratamiento (estresados y controles) mostraron menores niveles de 5-HT que los grupos que recibieron veintitrés días de tratamiento (estresados y controles). La interacción entre ambos factores no fue significativa. Los análisis *post hoc* indicaron que el grupo expuesto a nueve derrotas consecutivas presentaba menores niveles de 5-HT que el resto de los grupos ($p \leq 0,001$) (**figura 10**).

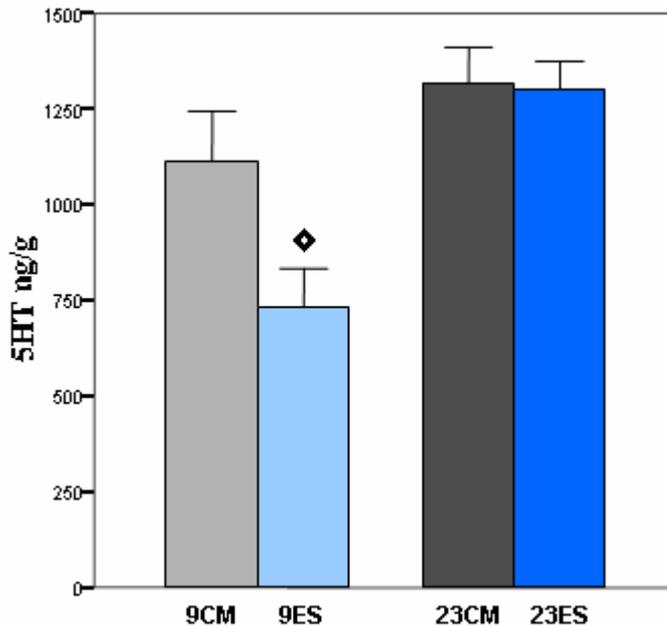


Figura 10. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HT (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente). \blacklozenge 9ES < Todos los grupos ($p \leq 0,001$ en todos los casos).

El análisis de regresión por pasos confirmó que el efecto de un estrés social (9 y 23 días) sobre la capacidad proliferativa de los linfocitos T cuando se utilizó Con-A o PHA no está mediado por la actividad serotoninérgica.

Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.

El estudio de la actividad dopaminérgica (ratio DOPAC/DA) hipotalámica en los grupos expuestos a nueve días de tratamiento mostró un efecto significativo del factor estrés ($F(2, 22) = 14,67$, $p \leq 0,0001$). Los análisis *post hoc* indicaron que el grupo sometido a estrés social presentó mayor actividad dopaminérgica que el grupo control manipulado y el grupo control no manipulado ($p \leq 0,0001$ y $p \leq 0,01$ respectivamente) (**figura 11**).

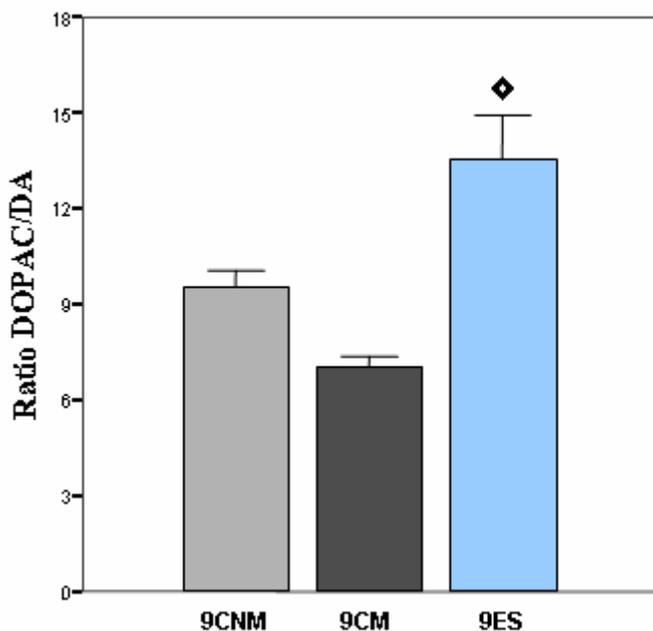


Figura 11. Medias (\pm E.E.M.) del ratio DOPAC/DA en hipotálamo de los sujetos sometidos durante 9 días a estrés social (9ES), el grupo control manipulado durante 9 días (9CM) y el grupo control no manipulado del mismo periodo de tiempo (9CNM). \blacklozenge 9ES > 9CM y 9CNM ($p \leq 0,0001$ y $p \leq 0,01$ respectivamente).

El análisis de los niveles de DOPAC no mostró ningún efecto significativo del factor estrés entre los grupos de nueve días de tratamiento (9ES, 9CM, 9CNM). Por el contrario el análisis de los niveles de DA mostró un efecto significativo del factor estrés ($F(2, 23) = 3,80$, $p \leq 0,04$). Los análisis *post hoc* indicaron que el grupo control manipulado presentaba mayores niveles de DA que el grupo control no manipulado ($p \leq 0,05$) (**figura 12**).

Resultados

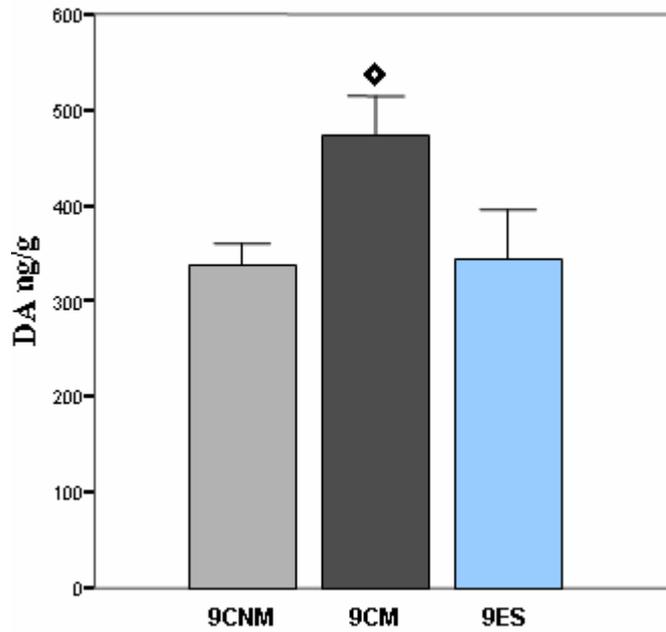


Figura 12. Niveles medios (\pm E.E.M.) de DA (ng/g de tejido hipotalámico) del grupo sometido durante 9 días a estrés social (9ES), el grupo control manipulado durante 9 días (9CM) y el control no manipulado del mismo período de tiempo (9CNM). ◆ 9CM > 9CNM ($p \leq 0,05$).

Cuando se compararon los grupos de nueve y veintitrés días de tratamiento, el análisis de la actividad dopaminérgica hipotalámica indicó un efecto significativo del factor estrés ($F(1, 28) = 22,73, p \leq 0,0001$), del factor tiempo ($F(1, 28) = 22,50, p \leq 0,0001$) y de la interacción entre ambos factores ($F(1, 28) = 8, 80, p \leq 0,01$). Los análisis *post hoc* indicaron que el grupo sometido a estrés social durante nueve días presentaba mayor actividad dopaminérgica que los demás grupos ($p \leq 0,0001$ en todos los casos) (**figura 13**).

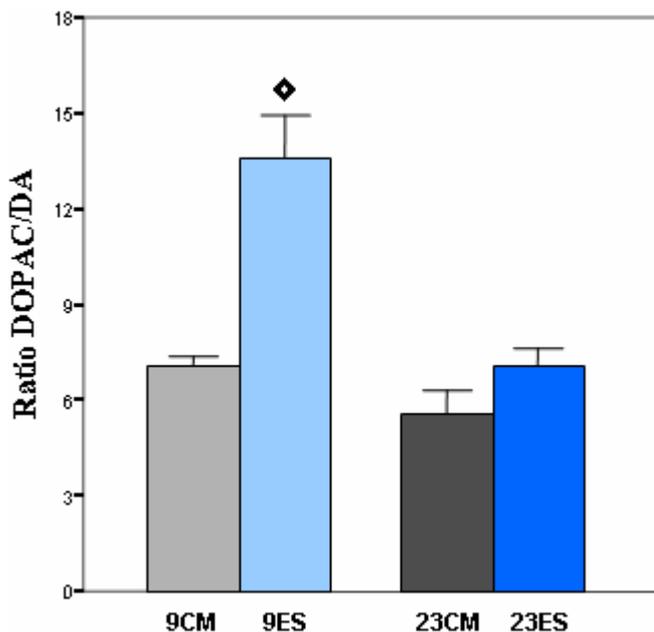


Figura 13. Medias (\pm E.E.M.) del ratio DOPAC/DA en hipotálamo de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente). \blacklozenge 9ES > Todos los grupos ($p \leq 0,001$ en todos los casos).

El análisis de los niveles de DOPAC mostró un efecto significativo del factor estrés ($F(1, 28) = 4,82$, $p \leq 0,04$) y del factor tiempo ($F(1, 28) = 7,08$, $p \leq 0,02$), no obstante la interacción entre ambos factores no fue significativa. Los grupos socialmente estresados durante nueve y veintitrés días mostraron mayores niveles de DOPAC que los grupos control manipulados durante nueve y veintitrés días. Además el grupo de nueve días de tratamiento (estresados y controles) presentó mayores niveles de DOPAC que el grupo de veintitrés días (estresados y controles). Los análisis *post hoc* mostraron que el grupo control de 23 días presentaba menores niveles de DOPAC que el resto de los grupos ($p \leq 0,05$) (**figura 14**).

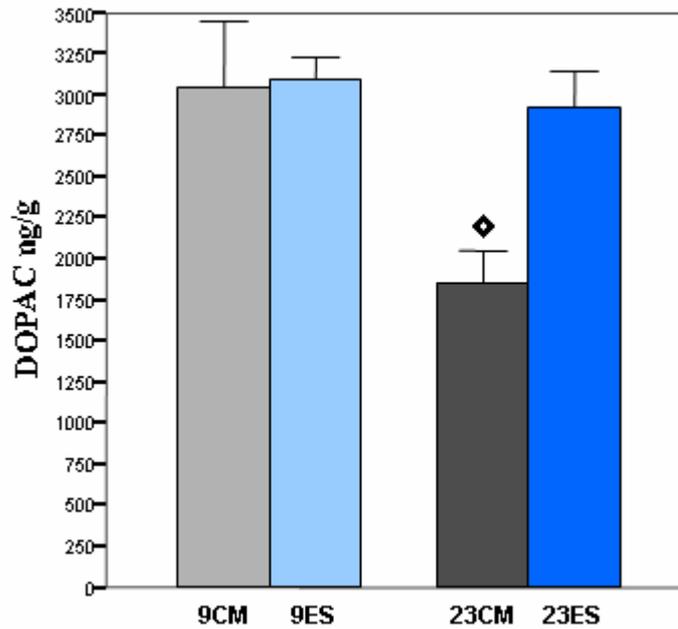


Figura 14. Niveles medios (\pm E.E.M.) de DOPAC (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente). \blacklozenge 23CM < Todos los grupos ($p \leq 0,05$ en todos los casos).

El análisis de los niveles de DA indicó un efecto significativo de la interacción entre el factor estrés y el tiempo ($F(1, 30) = 5,72, p \leq 0,03$). Sin embargo, no se encontraron diferencias en los análisis *post hoc* (**figura 15**).

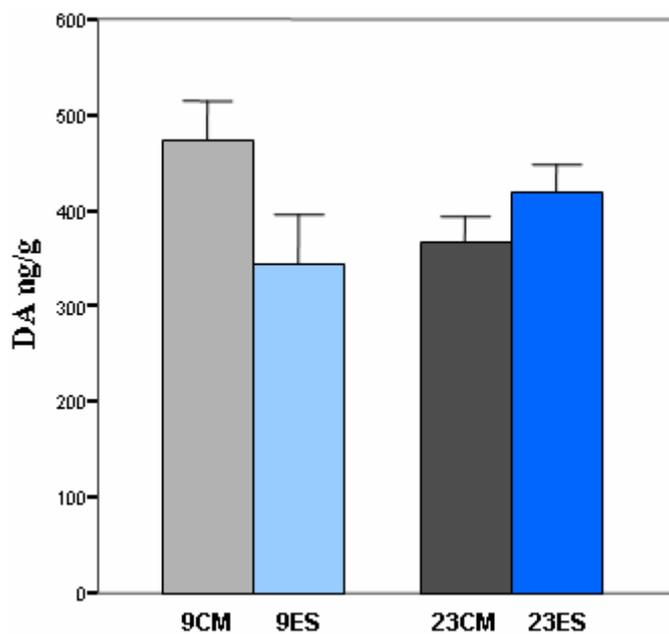


Figura 15. Niveles medios (\pm E.E.M.) de DA (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos sometidos durante 9 y 23 días a estrés social (9ES y 23ES respectivamente) y los grupos control manipulado durante 9 y 23 días (9CM y 23CM respectivamente).

El análisis de regresión por pasos confirmó que el efecto de un estrés social (9 y 23 días) sobre la disminución en la capacidad proliferativa de los linfocitos T cuando se estimularon con Con-A o PHA no está mediado por la actividad dopaminérgica.

1.4. Estrés Social y niveles de corticosterona en suero.

No se encontró un efecto significativo del estrés social sobre los niveles de corticosterona en el grupo de sujetos sometido a nueve derrotas cuando se compararon con los niveles hallados en los grupos control manipulados y no manipulados.

Cuando se compararon los grupos de nueve y veintitrés días de tratamiento, ni el factor estrés, ni el tiempo, ni la interacción entre ambos factores fue significativa.

2. EXPERIMENTO 2. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.

2.1. Estrés Social crónico y conducta social.

Los resultados muestran que el grupo de sujetos sometido durante cincuenta y dos días a estrés social (ES) y tratado con fluoxetina invierte menos tiempo en la conducta de inmovilidad ($F(1, 18) = 5,47, p \leq 0,04$) y mayor porcentaje de tiempo en la huida ($F(1, 18) = 4.40, p \leq 0,05$) que el grupo estresado tratado con vehículo. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en ninguna otra categoría conductual (**figura 16**).

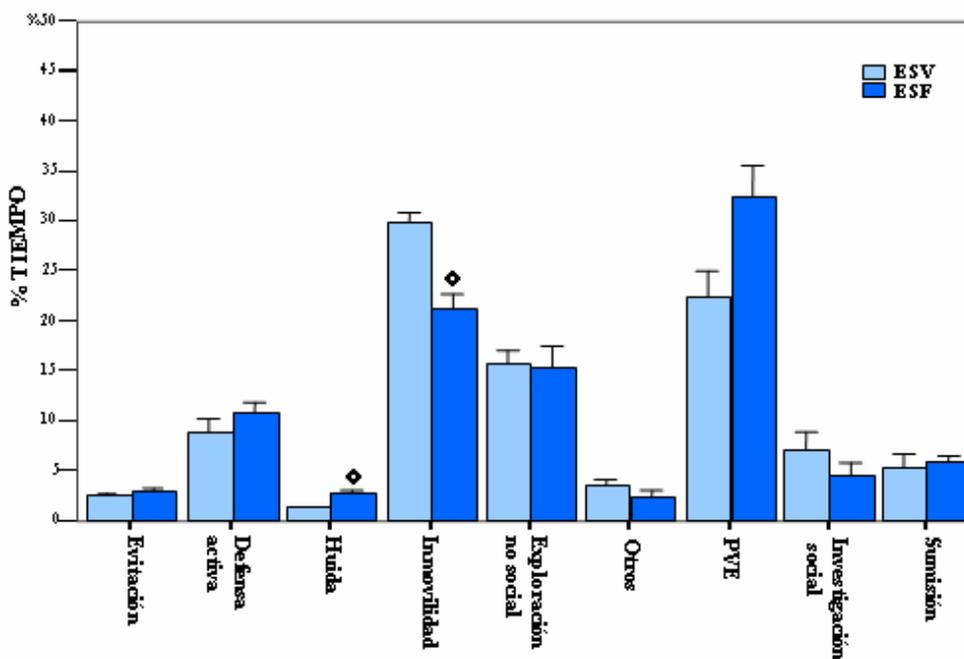


Figura 16. Porcentaje medio (\pm E.E.M.) de tiempo dedicado a cada una de las categorías conductuales en interacción social, de un total de 5 minutos registrados, en los grupos sometidos durante 52 días a estrés social y tratados con vehículo (ESV) o fluoxetina (ESF). ◆ $p \leq 0,05$.

2.2. Estrés Social crónico y sistema inmunitario.

Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina A (Con-A).

Los datos muestran un efecto significativo del estrés social de larga duración (52 días) sobre el IP cuando se utilizó el mitógeno ConA ($F(1, 44) = 36,70$, $p \leq 0,0001$). Ni el factor tratamiento farmacológico, ni su interacción con el factor estrés resultaron significativos. El grupo sometido a estrés social (tratado con fluoxetina o vehículo) presentó un menor IP que el grupo control manipulado (tratados con fluoxetina o vehículo). Los análisis *post hoc* indicaron que los grupos estresados tratados con fluoxetina o vehículo presentaban menores índices de proliferación que los grupos controles tratados con fluoxetina ($p \leq 0,0001$ y $p \leq 0,026$ respectivamente) o vehículo ($p \leq 0,0001$ y $p \leq 0,001$ respectivamente) (**figura 17**).

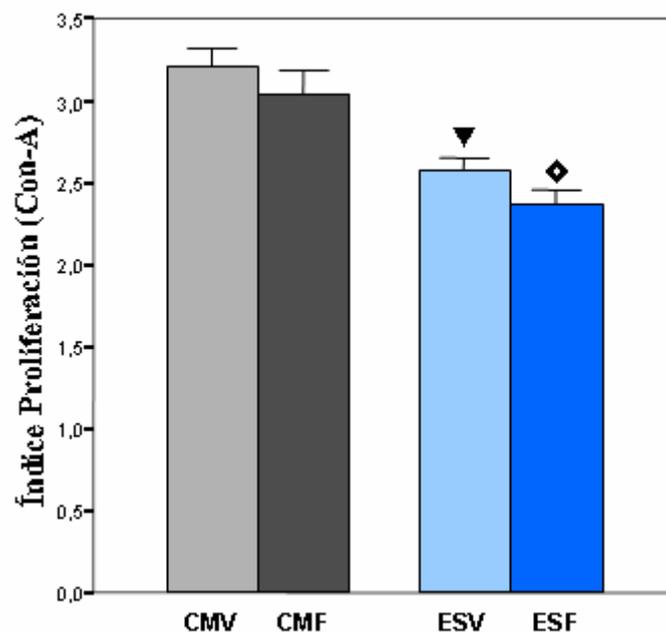


Figura 17. Índices de proliferación (IP) medios (\pm E.E.M.) cuando se utilizó Con-A de los grupos sometidos durante 52 días a estrés social tratados con vehículo (ESV) o fluoxetina (ESF) y de los grupos control tratados con vehículo (CMV) o fluoxetina (CMF).

▼ ESV < CMV y CMF ($p \leq 0,001$ y $p \leq 0,026$) ♦ ESF < CMF y CMV ($p \leq 0,0001$ y $p \leq 0,0001$).

Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitohemaglutinina (PHA).

Los resultados muestran un efecto significativo del factor estrés sobre el IP ($F(1, 44) = 29,74, p \leq 0,0001$), así como de la interacción entre el factor estrés y el tratamiento farmacológico ($F(1, 44) = 11,83, p \leq 0,001$). Los análisis *post hoc* muestran un mayor IP en el grupo sometido a estrés social tratado con fluoxetina en comparación al grupo estresado tratado con vehículo ($p \leq 0,01$). El grupo de animales socialmente estresado tratado con vehículo presentó menor IP que los grupos control manipulados tratados con vehículo o fluoxetina ($p \leq 0,0001$ en ambos casos) (**figura 18**).

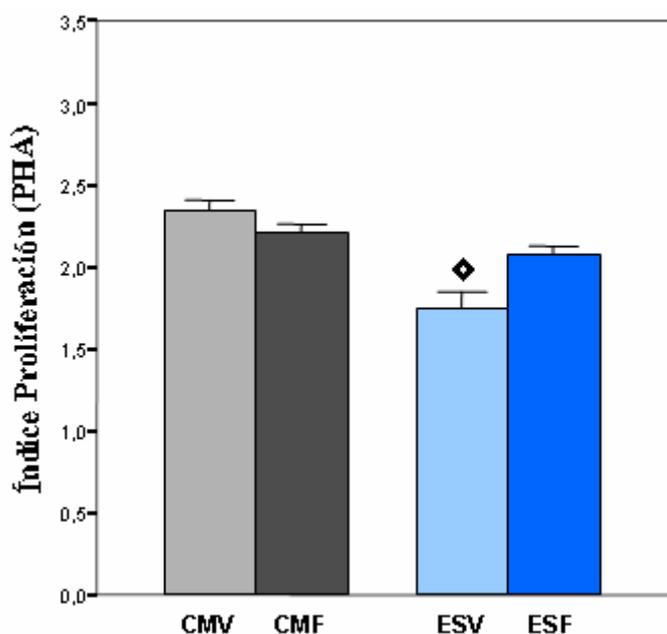


Figura 18. Índices de proliferación (IP) medios (\pm E.E.M.) cuando se utilizó PHA de los grupos sometidos durante 52 días a estrés social tratados con vehículo (ESV) o fluoxetina (ESF) y de los grupos control tratados con vehículo (CMV) o fluoxetina (CMF).

◆ ESV < CMF, CMV ($p \leq 0,0001$ en ambos casos) y ESF ($p \leq 0,01$).

2.3. Estrés Social crónico y actividad monoaminérgica hipotalámica.

Actividad serotoninérgica, niveles de 5-HIAA y 5-HT en hipotálamo.

El análisis de la actividad serotoninérgica (ratio 5HIAA/5HT) hipotalámica indicó un efecto significativo del factor estrés ($F(1, 33) = 6,87, p \leq 0,02$). El grupo sometido a estrés social (ES) (tratado con fluoxetina o vehículo) presentó menor actividad serotoninérgica que el grupo control manipulado (tratado con fluoxetina o vehículo) (**figura 19**). Ni el tratamiento farmacológico, ni la interacción con el estrés tuvieron un efecto significativo.

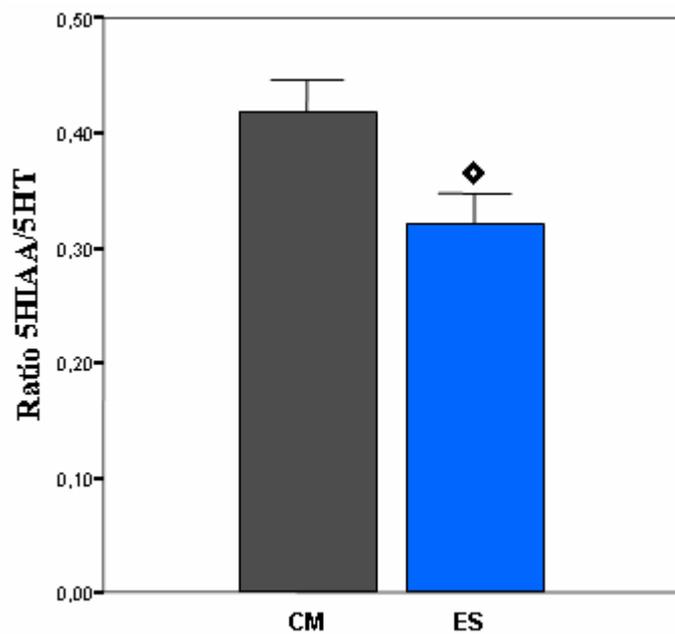


Figura 19. Medias (\pm E.E.M.) del ratio 5HIAA/5HT en hipotálamo del grupo sometido a estrés social (ES) y del grupo control manipulado (CM). \blacklozenge ES < CM ($p \leq 0,05$).

Cuando se analizaron los niveles de 5HIAA se encontró un efecto significativo del factor estrés ($F(1,35) = 5.78, p \leq 0.03$) y del tratamiento farmacológico ($F(1,35) = 7.57, p \leq 0.001$), aunque la interacción entre ambos

factores no fue significativa. Se observó una reducción de los niveles de 5HIAA en el grupo sometido a estrés social y en el tratado con fluoxetina (**figura 20 y 21**).

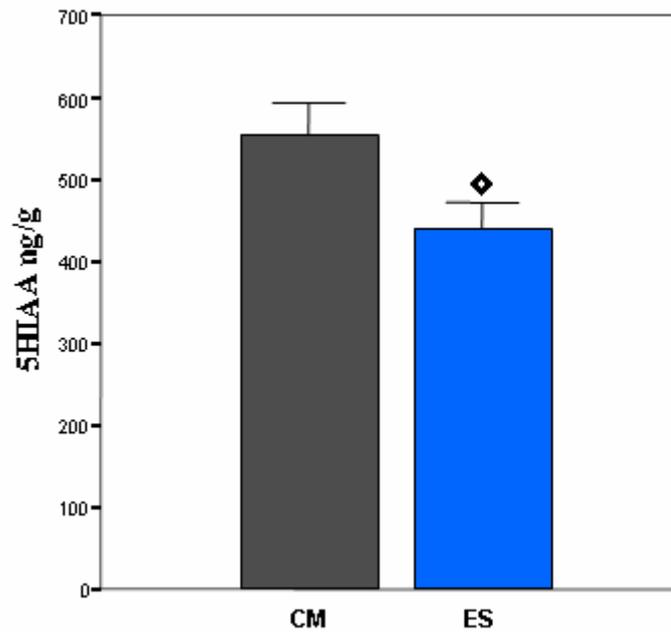


Figura 20. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HIAA (ng/g de tejido hipotalámico) del grupo sometido a estrés social (ES) y del grupo control manipulado (CM). ◆ ES < CM ($p \leq 0,03$).

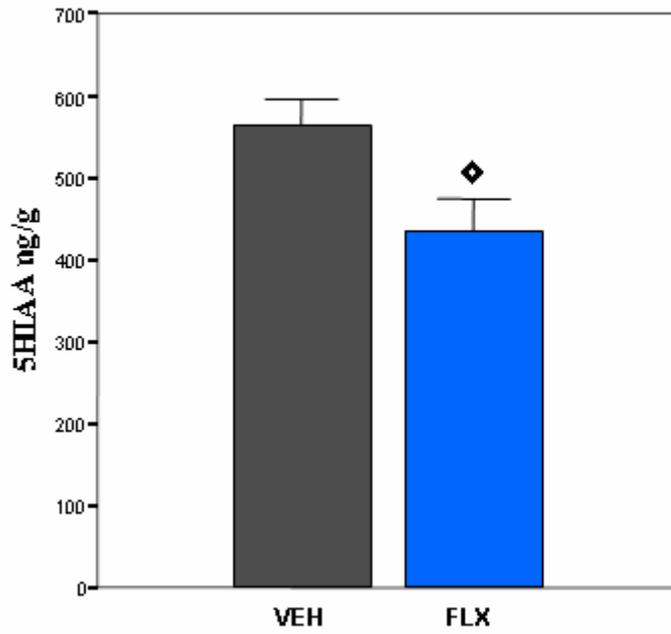


Figura 21. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HIAA (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos tratados con vehículo (VEH) o con fluoxetina (FLX). \blacklozenge FLX < VEH ($p \leq 0,001$).

Los niveles de 5HT fueron reducidos por el tratamiento con el fármaco ($F(1, 34) = 10,05, p \leq 0,01$) pero no se observó un efecto significativo ni del estrés ni de la interacción entre éste y el tratamiento farmacológico (**figura 22**).

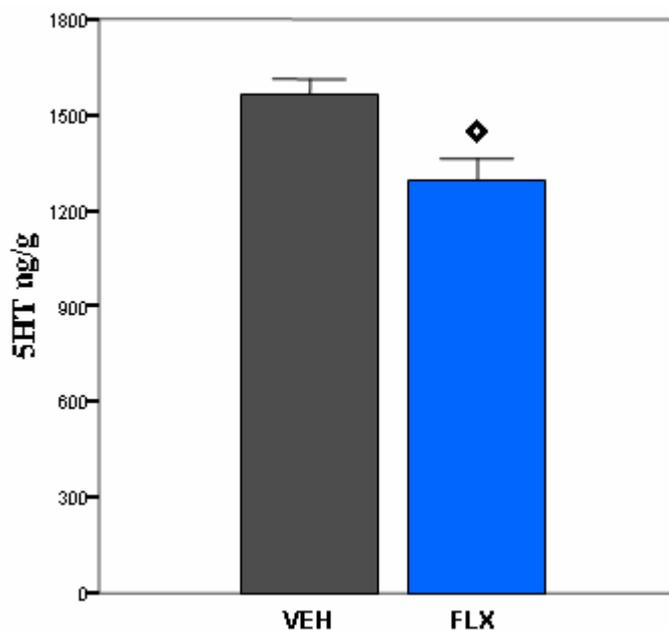


Figura 22 Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HT (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos tratados con vehículo (VEH) o con fluoxetina (FLX). \blacklozenge FLX < VEH ($p \leq 0,01$).

Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.

No se encontró un efecto significativo del estrés, tratamiento farmacológico o de la interacción entre ambos factores sobre la actividad dopaminérgica (ratio DOPAC/DA) ni en los niveles de DOPAC en ninguno de los grupos estudiados.

El análisis de los niveles de DA mostró un efecto significativo del tratamiento farmacológico ($F(1, 35) = 7,84$, $p \leq 0,01$) y de su interacción con el factor estrés ($F(1, 35) = 16,84$, $p \leq 0,0001$). Los niveles de DA fueron superiores en el grupo control manipulado tratado con fluoxetina respecto a los grupos socialmente estresados (tratados con fluoxetina o vehículo) ($p \leq 0,01$ en ambos casos) y al grupo control manipulado tratado con vehículo ($p \leq 0,0001$) (**figura 23**).

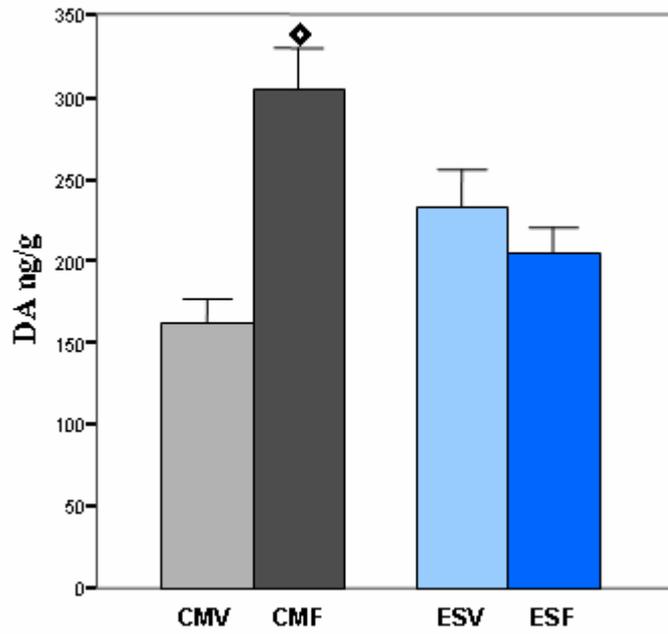


Figura 23. Niveles medios (\pm E.E.M.) de DA (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos sometidos a estrés social tratados con vehículo (ESV) o fluoxetina (ESF) y de los grupos control tratados con vehículo (CMV) o fluoxetina (CMF). \blacklozenge CMF > ESF, ESV ($p \leq 0,01$ en ambos casos) y CMV ($p \leq 0,001$).

2.4. Estrés Social crónico y niveles de corticosterona en suero.

El análisis de los niveles de corticosterona en suero indicó un efecto significativo de la interacción entre el factor estrés y el tratamiento farmacológico ($F(1, 42) = 4,32, p \leq 0,05$). Los análisis *post hoc* mostraron que el grupo sometido a estrés social tratado con vehículo presentaba menores niveles de corticosterona que el grupo control manipulado tratado con vehículo ($p \leq 0,05$) (figura 24).

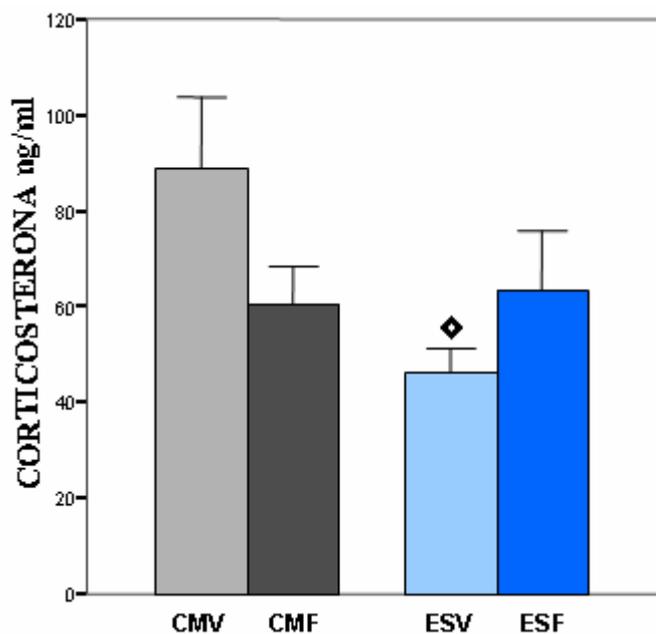


Figura 24. Niveles medios (\pm E.E.M.) de corticosterona en suero (ng/ml) de los grupos sometidos a estrés social tratados con vehículo (ESV) o fluoxetina (ESF) y de los grupos control tratados con vehículo (CMV) o fluoxetina (CMF). \blacklozenge $ESV < CMV$ ($p \leq 0,05$).

3. EXPERIMENTO 3. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO.

3.1. EMC y condicionamiento de preferencia de lugar.

El análisis de la varianza de medidas repetidas del tiempo invertido en la prueba de CPL indicó un aumento significativo del tiempo en el lugar condicionado por todos los sujetos ($F(1, 18) = 26,415$; $p \leq 0,001$). No se observaron diferencias significativas en la proporción de tiempo empleado entre la fase pre-test y la fase post-test entre el grupo sometido durante 3 semanas a EMC y el grupo control (**figura 25**).

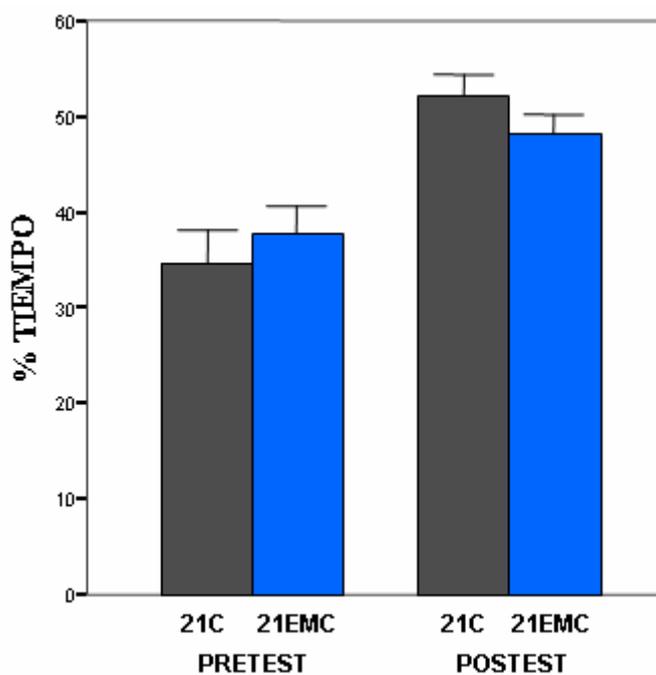


Figura 25. Porcentaje medio (\pm E.E.M.) de tiempo invertido en la fase pretest y postest en la prueba de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) del grupo sometido durante 21 días a EMC (21EMC) y del grupo control (21C).

3.2. EMC y sistema inmunitario.

Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina-A (Con-A).

El estudio de los efectos del EMC de una y tres semanas de duración sobre la capacidad proliferativa de las células mononucleares de bazo ante la estimulación con concanavalina A (Con-A) *in vitro*, no mostró efectos significativos del factor estrés, ni del factor tiempo, ni de la interacción entre ambos factores.

Capacidad Proliferativa de la células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitoheماغlutinina (PHA).

Tampoco se observó un efecto significativo del EMC de una y tres semanas de duración sobre el índice de proliferación cuando el mitógeno utilizado fue la fitohemaglutinina (PHA) *in vitro*.

3.3. EMC y actividad monoaminérgica hipotalámica.

Actividad serotoninérgica y niveles de 5HIAA y 5HT en hipotálamo.

El estudio del efecto del EMC de una y tres semanas de duración sobre la actividad serotoninérgica (Ratio 5HIAA/5HT) hipotalámica, mostró un efecto significativo del factor tiempo ($F(1, 28) = 4,578$; $p \leq 0,041$). Se encontró un aumento de la actividad serotoninérgica en el grupo sometido a tres semanas de tratamiento respecto al grupo de una semana. Ni el factor estrés, ni la interacción entre el estrés y el tiempo fueron significativos. Los análisis *post hoc* mostraron que el grupo sometido a tres semanas de EMC presentaba mayor actividad serotoninérgica que el grupo control correspondiente al periodo de una semana ($p \leq 0,045$) (figura 26).

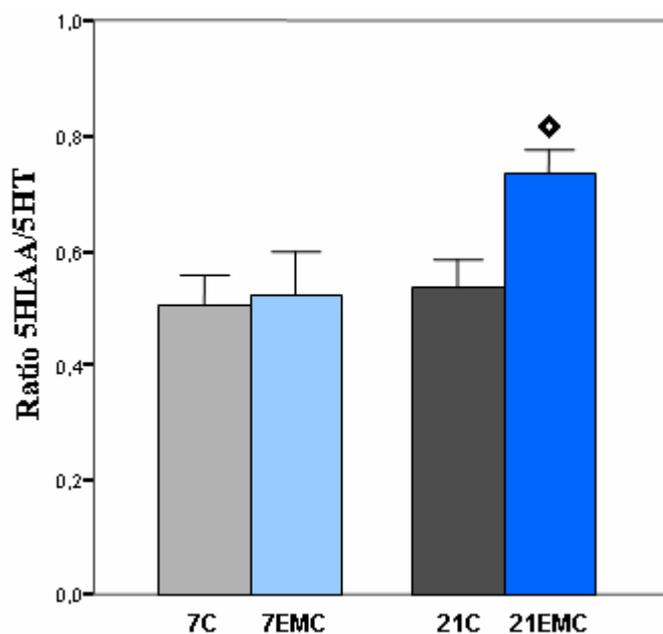


Figura 26. Medias (\pm E.E.M.) del ratio 5HIAA/5HT en hipotálamo de los grupos sometidos durante 7 y 21 días a EMC (7EMC y 21EMC respectivamente) y sus respectivos controles (7C y 21C respectivamente). \blacklozenge 21EMC > 7C ($p < 0,05$).

No se observó un efecto significativo del factor estrés, ni del tiempo, ni de la interacción entre ambos factores sobre los niveles de 5HIAA.

El análisis de los niveles de 5HT hipotalámicos mostró un efecto significativo del factor tiempo ($F(1, 28) = 5,693$; $p \leq 0,024$). Se observó una disminución de los niveles de 5HT en el grupo sometido a tres semanas de tratamiento respecto al grupo de una semana. Ni el factor estrés, ni la interacción entre el estrés y el tiempo fueron significativos. Los análisis *post hoc* mostraron que el grupo sometido a tres semanas de EMC tenía menores niveles de 5HT que el grupo sometido a una semana de EMC ($p \leq 0,028$) (**figura 27**).

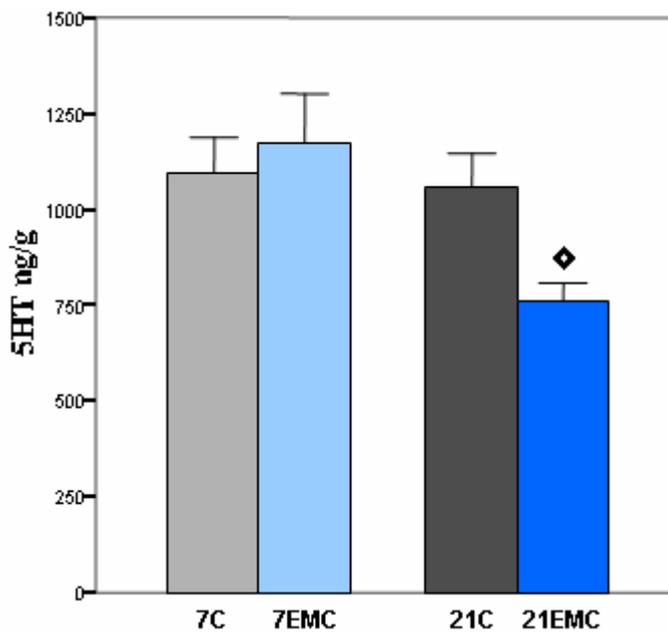


Figura 27. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HT (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos sometidos durante 7 y 21 días a EMC (7EMC y 21EMC respectivamente) y sus respectivos controles (7C y 21C respectivamente). ◆ 21EMC < 7EMC ($p < 0,05$).

Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.

Los datos muestran un efecto significativo del factor estrés ($F(1, 27) = 4,14$; $p \leq 0,05$) sobre la actividad dopaminérgica (Ratio DOPAC/DA) hipotalámica. Se observó un aumento de la actividad dopaminérgica en el grupo estresado respecto al grupo control. El factor tiempo también fue significativo ($F(1, 27) = 4,29$; $p \leq 0,048$), observándose mayor actividad dopaminérgica en el grupo que recibió tres semanas de tratamiento respecto al de una semana. La interacción entre ambos factores también fue significativa ($F(1, 27) = 7,92$; $p \leq 0,009$). El análisis *post hoc* efectuado reveló que el grupo estresado durante tres semanas presentaban mayor actividad dopaminérgica que el resto de los grupos: control de tres semanas de tratamiento ($p \leq 0,014$), control de una semana de tratamiento ($p \leq 0,039$) y estresado de una semana de tratamiento ($p \leq 0,009$) (figura 28).

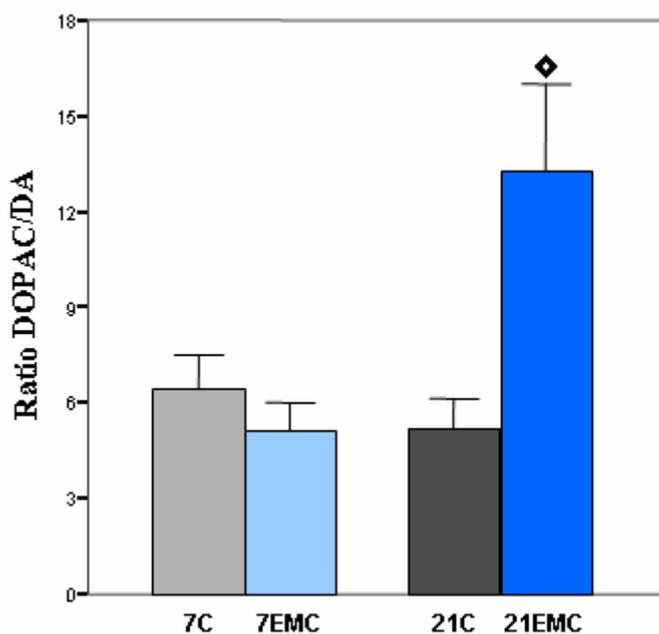


Figura 28. Medias (\pm E.E.M.) del ratio DOPAC/DA en hipotálamo de los grupos sometidos durante 7 y 21 días a EMC (7EMC y 21EMC respectivamente) y sus respectivos controles (7C y 21C respectivamente). \blacklozenge 21EMC > 21C, 7C ($p < 0,05$ en ambos casos) y 7EMC ($p < 0,01$).

Resultados

El análisis de los niveles de DOPAC hipotalámico no mostró efectos significativos ni del factor estrés, ni del tiempo, ni de la interacción entre ambos factores.

El estudio de los niveles de DA hipotalámica tampoco mostró un efecto significativo del factor estrés, ni del tiempo, ni de la interacción entre los dos factores.

3.4. EMC y niveles de corticosterona en suero.

El estudio del efecto del EMC de una y tres semanas de duración sobre los niveles de corticosterona en suero, no mostró efectos significativos.

4. EXPERIMENTO 4. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS MEDIO CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA.

4.1. EMC y condicionamiento de preferencia de lugar.

El análisis de la varianza de medidas repetidas del tiempo invertido en la prueba de CPL indicó un aumento significativo del tiempo dedicado en el lugar condicionado por todos los sujetos ($F(1, 36) = 126,271; p \leq 0,0001$). El análisis de la proporción de tiempo empleado entre la fase pre-test y la fase post-test de la prueba de CPL en el grupo sometido durante 7 semanas a EMC y el grupo control, indicó un efecto significativo del factor estrés ($F(1, 36) = 5,696; p \leq 0,022$). Ni el tratamiento farmacológico ni la interacción de este y el factor estrés fueron significativos. Con el fin de conocer las diferencias en la evolución del condicionamiento en la prueba de CPL entre los diferentes grupos, se realizó un análisis de la varianza de la fase pre-test y post-test por separado. El análisis de la varianza de la fase pre-test mostró un efecto significativo del factor estrés ($F(1, 36) = 10,19; p \leq 0,003$), observándose que el grupo sometido a EMC invertía menor proporción de tiempo en el lugar condicionado (el menos preferido) que el grupo control. El tratamiento farmacológico y su interacción con el estrés no mostraron diferencias significativas en la fase pre-test. Los análisis *post hoc* de la fase pre-test indicó que el grupo estresado tratado con vehículo presentaba menor proporción de tiempo invertido en el lugar condicionado respecto a los grupos control tratados con vehículo o fluoxetina ($p \leq 0,05$ y $p \leq 0,032$ respectivamente) (**figura 29**). El análisis de la varianza efectuado en la fase post-test no mostró un efecto significativo del estrés, ni del tratamiento farmacológico ni de la interacción entre ambos factores.

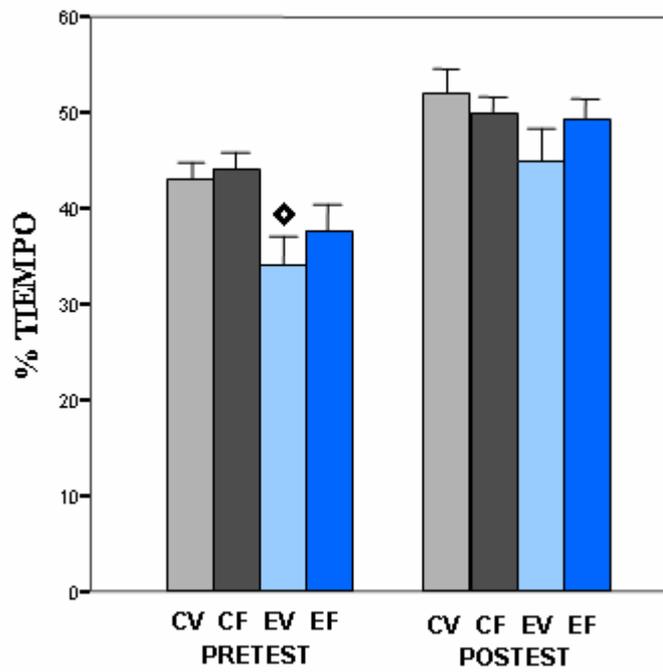


Figura 29. Porcentaje de tiempo medio (\pm E.E.M.) invertido en la fase pretest y posttest en la prueba de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) de los grupos sometidos durante 7 semanas a EMC y tratados con vehculo o fluoxetina (EV y EF respectivamente) y de sus respectivos controles (CV y CF). \blacklozenge EV < CV y CF ($p \leq 0,05$ y $p \leq 0,032$).

4.2. EMC y sistema inmunitario.

Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Concanavalina-A (Con-A).

No se encontraron diferencias significativas cuando se analizó el efecto del EMC de siete semanas de duración y del tratamiento con fluoxetina sobre la capacidad proliferativa de las células mononucleares de bazo ante la estimulación con Con-A “*in vitro*”.

Capacidad proliferativa de las células esplénicas mononucleares ante la estimulación con Fitohemaglutinina (PHA).

Tampoco se observaron efectos significativos del EMC y del tratamiento con fluoxetina sobre el IP cuando el mitógeno utilizado fue la PHA.

4.3. EMC y actividad monoaminérgica hipotalámica.

Actividad serotoninérgica, niveles de 5HIAA y 5HT en hipotálamo.

El estudio del efecto del EMC de 7 semanas de duración y del tratamiento con fluoxetina sobre la actividad serotoninérgica (Ratio 5HIAA/5HT) mostró un efecto significativo de la interacción entre el factor estrés y el tratamiento farmacológico ($F(1, 28) = 4,691; p \leq 0,039$). Los análisis *post hoc* mostraron una disminución de la actividad serotoninérgica del grupo estresado tratado con vehículo respecto al grupo control tratado con vehículo ($p \leq 0,05$) (figura 30).

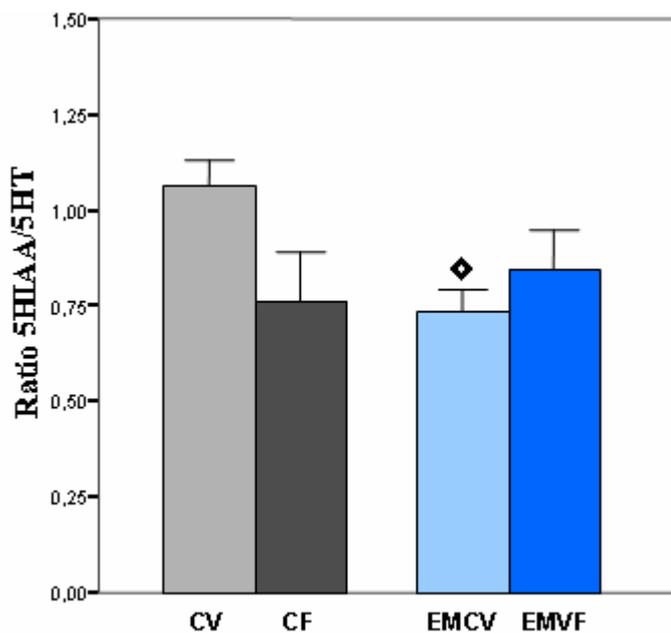


Figura 30. Medias (\pm E.E.M.) del ratio 5HIAA/5HT en hipotálamo de los grupos sometidos durante 7 semanas a EMC y tratados con vehículo o fluoxetina (EMCV y EMCF respectivamente) y de sus respectivos controles (CV y CF). \blacklozenge EMCV < CV ($p < 0,05$).

No se observaron efectos significativos del EMC y del tratamiento con fluoxetina sobre los niveles hipotalámicos de 5HIAA.

El estudio de los efectos del EMC y del tratamiento con fluoxetina sobre los niveles de 5HT mostró un efecto significativo de la interacción entre ambos factores ($F(1, 28) = 4,536$; $p \leq 0,042$). Los análisis *post hoc* mostraron que el grupo control tratado con vehículo presentaba menores niveles de 5-HT que el grupo control tratado con fluoxetina ($p \leq 0,044$) (**figura 31**).

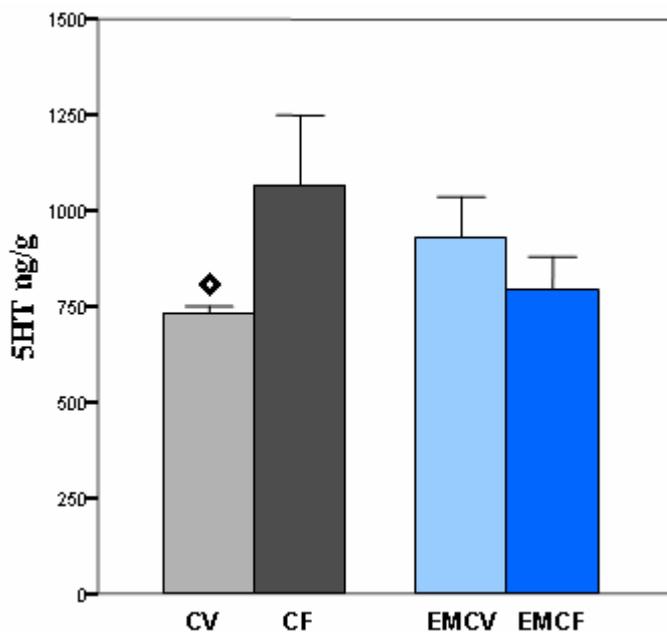


Figura 31. Niveles medios (\pm E.E.M.) de 5HT (ng/g de tejido hipotalámico) de los grupos sometidos durante 7 semanas a EMC y tratados con vehículo o fluoxetina (EMCV y EMCF respectivamente) y de sus respectivos controles (CV y CF). \blacklozenge CV < CF ($p < 0,044$).

Actividad dopaminérgica, niveles de DOPAC y DA en hipotálamo.

El estudio de los efectos del EMC y del tratamiento con fluoxetina sobre la actividad dopaminérgica (Ratio DOPAC/DA), los niveles de DOPAC y de DA, no pudieron realizarse por pérdida de los registros de lectura debido a problemas técnicos en el software.

4.4. EMC y niveles de corticosterona en suero.

No se observó ningún efecto significativo del EMC ni del tratamiento con fluoxetina cuando se estudiaron los niveles de corticosterona en suero.

DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

1. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL (EXPERIMENTO 1).

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo muestran que la experiencia de derrota y el contacto sensorial permanente con el agresor producen cambios conductuales, principalmente en las conductas de defensa activa y de “postura de vigilancia extrema” (PVE), dependientes de la duración del estrés social. La conducta mostrada por los sujetos derrotados durante nueve días, se caracteriza por un predominio de una PVE hacia los movimientos del agresor que implica inmovilidad y una menor defensa activa en respuesta a los ataques de su oponente. La atención extrema manifestada por el sujeto derrotado, conducta de valoración del riesgo mediante la cual el sujeto realiza un reconocimiento del entorno ante un peligro potencial, se ha relacionado con un estado de ansiedad generado por la presencia amenazante del sujeto dominante (Blanchard y cols., 1991; Blanchard y cols., 1995; Blanchard y cols., 2001a; Blanchard y cols., 2001b; Blanchard y cols., 2001c). Así, el modelo de contacto sensorial, una situación de estrés continuo inescapable, donde el sujeto derrotado no tiene control de la situación, parece dar lugar de forma aguda a conductas que indican un aumento de la ansiedad. Otros trabajos, utilizando diferentes pruebas de ansiedad, también han encontrado que la derrota repetida induce un aumento de la conducta de ansiedad (Avgustinovich y cols., 1997; Avgustinovich y cols., 2003; Berton y cols., 1998; Berton y cols., 1999; Kudryavtseva, 1994). El hecho de que los sujetos expuestos a veintitrés confrontaciones muestren menos PVE y más defensa activa que los animales expuestos a nueve confrontaciones sugiere que la conducta de valoración del riesgo en estos sujetos deja de ser adecuada después de repetidas experiencias de exposición al estrés social, adoptando una estrategia más activa.

Paralelamente al déficit conductual, los sujetos con una experiencia de nueve derrotas presentan una menor respuesta inmunitaria mostrando una menor capacidad proliferativa de los linfocitos T del bazo, cuando son estimulados con el mitógeno ConA, que los sujetos no manipulados o los sometidos a un estrés social de veintitrés enfrentamientos. Otros autores también han encontrado un efecto inmunosupresor estudiando diferentes medidas inmunitarias tras la aplicación de diferentes paradigmas de estrés social (Bartolomucci y cols., 2001; Bohus y cols., 1993; Devoino y cols., 2003b; Hardy y cols., 1990; Vegas y cols., 2006). Por otra parte, el factor tiempo fue una variable importante a la hora de valorar los cambios inmunitarios. La capacidad proliferativa aumentó con el tiempo tanto en los sujetos socialmente estresados como en los controles manipulados. Ahora bien, la velocidad de este aumento fue más lenta en los sujetos estresados socialmente, dando lugar a una diferencia significativa entre animales socialmente estresados y controles manipulados después de veintitrés días con ambos mitógenos. Así, se pone en evidencia el efecto inmunosupresor de la exposición crónica a estresores sociales. Otros trabajos también han encontrado una relación entre la duración del estrés social y los efectos sobre la actividad inmunitaria. Así, aunque la respuesta inmunitaria aumentó en función del tiempo, tanto los ratones expuestos a diez como a veinte derrotas sucesivas mostraron una disminución significativa de la respuesta inmunitaria ante una estimulación antigénica con glóbulos rojos de carnero comparados con los sujetos controles intactos (Devoino y cols., 2003b).

El efecto de los estresores sociales sobre la actividad serotoninérgica (ratio 5HIAA/5-HT) del hipotálamo también parece depender del número de derrotas a las cuales se expone al sujeto. Los datos indican que únicamente tras una experiencia de nueve derrotas consecutivas se produce un aumento significativo de la misma. Éste cambio sugiere un aumento de la transmisión serotoninérgica en esta región. Los resultados de otros estudios también muestran un aumento en la actividad serotoninérgica en diferentes regiones cerebrales de ratas y ratones sumisos (Avgustinovich y cols., 1999; Berton y cols., 1999; Blanchard y cols., 1991; Devoino y cols., 2003b; Filipenko y cols., 2002a).

Igualmente, solo nueve días de exposición al estresor social produjeron un aumento significativo del ratio DOPAC/DA en el hipotálamo. Pocos estudios se han centrado en la relación entre estresores sociales y DA, pero existen evidencias de un aumento de la actividad dopaminérgica en el núcleo accumbens y en la corteza prefrontal en respuesta a experiencias de derrota en ratas y ratones (Haney y cols., 1990; Tidey y Miczek, 1996). Varios datos sugieren una asociación entre la disfunción de la transmisión serotoninérgica y dopaminérgica y los trastornos de ansiedad (Graeff y cols., 1997; Talalalenko y cols., 2001; Tidey y Miczek, 1996). Los animales expuestos a una variedad de estresores muestran aumento del turnover de serotonina en diferentes áreas cerebrales y manifiestan cambios conductuales indicativos de un aumento del miedo y la ansiedad (Kaehler y cols., 2000; Wu y cols., 1999). Otros datos muestran que microinyecciones de DA en el hipotálamo ventromedial en ratas provocan un aumento de la ansiedad (Talalalenko y cols., 2001). También se ha puesto en evidencia que los aumentos de la actividad DA no ocurren durante los períodos de mayor actividad motora, sino más bien cuando los sujetos sumisos muestran un mayor grado de atención hacia el sujeto dominante (Tidey y Miczek, 1996). De acuerdo con esto, se ha observado que la administración de fármacos generadores de ansiedad pueden aumentar los niveles de DA en el núcleo accumbens sin aumentar la actividad locomotora (McCullough y Salamone, 1992). Por el contrario, el aumento del ratio 5HIAA/5-HT y DOPAC/DA observado después de nueve experiencias de derrota no se observa después de veintitrés confrontaciones. Todos estos datos, junto con los cambios conductuales observados podrían reflejar una diferente percepción de la situación estresante en función del tiempo de exposición a los estresores sociales.

Por otra parte, existe evidencia de la relación entre el sistema serotoninérgico y el sistema inmune (Aune y cols., 1990; Aune y cols., 1993; Aune y cols., 1994; Mossner y Lesch, 1998) y algunos estudios indican un efecto inhibitorio de la actividad serotoninérgica central sobre la respuesta inmunitaria (Devoino y cols., 1988; Devoino y cols., 2003b; Idoia y cols., 1997; Qiu y cols., 1996). Igualmente, se ha destacado el papel inmunoregulador de la DA aunque la

relación específica entre el sistema inmunitario y la DA queda por establecer (Besedovsky y Del Rey, 1996; Ganong y cols., 1985; Matera y cols., 1992). Así, diferentes datos muestran que la DA influye en la síntesis y liberación de varias hormonas de la pituitaria anterior las cuales, a su vez, tienen un importante papel regulador en las actividades funcionales de diferentes células efectoras del sistema inmunitario (Basu y Dasgupta, 2000; Berezi, 1994). Nuestro estudio muestra un aumento del ratio 5-HIAA/5-HT y del ratio DOPAC/DA en el grupo de sujetos sometidos a estrés social durante nueve días, así como una menor respuesta inmunitaria. Sin embargo, el análisis de los posibles mecanismos mediadores en el efecto inmunosupresor producido por un estrés social de nueve derrotas, no indicó que los cambios en el sistema inmunitario estuvieran relacionados con los cambios en la actividad de estas monoaminas. La menor respuesta inmunitaria encontrada en los sujetos estresados sociales tampoco parece estar simplemente mediada por la corticosterona, ya que no se han encontrado diferencias significativas en los niveles de esta hormona.

2. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL ESTRÉS SOCIAL CRÓNICO Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA (EXPERIMENTO 2).

El análisis de los datos obtenidos en el estudio de los efectos de la fluoxetina sobre los cambios conductuales producidos por estrés social de larga duración muestran que la fluoxetina reduce el tiempo dedicado a la conducta de inmovilidad y aumenta el tiempo invertido en la conducta de huida en los sujetos sumisos estresados socialmente mediante la experiencia de cincuenta y dos derrotas. Estos datos indican que el fármaco produce una mejoría conductual que se manifiesta con conductas más activas por parte de los sujetos sumisos modificando los efectos del estrés prolongado. Nuestros resultados también indican que no existen diferencias en la actividad serotoninérgica y dopaminérgica entre los sujetos estresados que fueron tratados con fluoxetina y los estresados que no recibieron tratamiento. No obstante, los cambios conductuales observados podrían atribuirse a cambios neuroadaptativos de los receptores 5HT_{1A}. Existen datos que asocian los efectos conductuales ansiolíticos del tratamiento con fluoxetina con una desensibilización de los receptores 5HT_{1A} en zonas cerebrales como el hipotálamo (Zhang y cols., 2000).

El análisis de la respuesta inmunitaria indica que un estrés crónico de larga duración produce un efecto inmunosupresor, similar al hallado utilizando períodos más cortos de estrés social. Nuestros datos muestran que la fluoxetina reduce esencialmente las diferencias en la respuesta inmune (capacidad proliferativa utilizando PHA como mitógeno) entre los sujetos socialmente estresados y los controles manipulados. En este sentido, otros autores también han encontrado un efecto inmunopotenciador de la fluoxetina (Kubera y cols., 2000b). También hay datos que muestran que un tratamiento prolongado con fluoxetina protege de los efectos adversos de diferentes tipos de estresores sobre la respuesta proliferativa de células linfoides esplénicas en ratones (Ayelli-Edgar y cols., 2002; Freire-Garabal y cols., 1997).

Nuestros resultados también muestran una disminución de la actividad serotoninérgica en sujetos socialmente estresados, además de la disminución de la

capacidad proliferativa. Sin embargo, los resultados hallados utilizando PHA como mitógeno nos indican que los cambios en la ratio de serotonina no se relacionan con los cambios encontrados en el sistema inmunitario, ya que la inmunopotenciación observada en el grupo tratado con fluoxetina no se acompañó de cambios en la actividad serotoninérgica. Sin embargo, no podemos excluir la posibilidad de un efecto inmunomodulador diferente de la fluoxetina en función del diferente estado neurohormonal y proliferativo de las células inmunitarias que muestran los sujetos estresados y no estresados (Ayelli-Edgar y cols., 2002).

Aunque normalmente el estrés se asocia con un aumento de los niveles de glucocorticoides, los bajos niveles basales de corticosterona encontrados en los sujetos estresados socialmente están de acuerdo con otros datos de la investigación animal que indican un decremento gradual en la actividad adrenal basal en respuesta a una exposición continuada a los estresores (Albeck y cols., 1997; Berton y cols., 1999; Natelson y cols., 1988). Esta hipofunción podría reflejar tanto cambios funcionales como morfológicos en las diferentes estructuras del eje HPA y otras estructuras nerviosas que regulan su actividad (Heim y cols., 2000; Van Dijken y cols., 1993). La fluoxetina, de nuevo, muestra efectos protectores, revertiendo los efectos de los estresores sociales sobre los niveles basales de corticosterona.

En general, los datos indican que los estresores sociales agudos y crónicos producen perfiles característicos diferentes en las variables conductuales y fisiológicas medidas. La exposición a un estrés social agudo produce cambios los cuales parecen reflejar un aumento de la ansiedad. Los resultados también ponen en evidencia que el efecto inmunosupresor encontrado tras una exposición de corta duración (nueve días) se manifiesta también tras la aplicación de estresores sociales crónicos (veintitrés y cincuenta y dos días). Por último, el tratamiento con fluoxetina revierte los efectos conductuales, neuroendocrinos e inmunitarios causados por el estrés social crónico.

3. EFECTOS CONDUCTUALES, NEUROENDOCRINOS E INMUNITARIOS DEL EMC Y DEL TRATAMIENTO CON FLUOXETINA (EXPERIMENTOS 3 Y 4).

Los resultados muestran que la aplicación de tres semanas de estrés medio crónico no produce diferencias significativas en la conducta de preferencia de lugar en ratones, indicando que los sujetos sometidos a este tipo de estrés no manifiestan una disminución de la sensibilidad al refuerzo. Hay que señalar que en trabajos anteriores si se ha observado una disminución de la conducta de preferencia de lugar en sujetos sometidos a EMC (D'aquila y cols., 1997a; Muscat y cols., 1992; Papp y cols., 1991; Papp y cols., 1992; Papp y cols., 1993a; Papp y cols., 1993b; Valverde y cols., 1997). La elección de este paradigma como medida de la anhedonia se debió a la gran variabilidad que mostraron otros registros conductuales utilizados para evaluar el estado hedónico de los sujetos sometidos a estrés. Como hemos señalado anteriormente, el procedimiento más común para evaluar la anhedonia ha sido el consumo/preferencia de sacarosa utilizado también en nuestro laboratorio en trabajos previos (Azpiroz y cols., 1999). Sin embargo, no siempre se han logrado reproducir los resultados (Haidkind y cols., 2003; Harris y cols., 1997; Harro y cols., 2001; Murison y Hansen, 2001) (y otros autores y datos de nuestro laboratorio no mostrados). La inconsistencia de los resultados hallados en el consumo de sacarosa podría deberse a una serie de factores que podrían también justificar los resultados hallados en nuestro trabajo. Así, las diferencias genéticas parecen jugar un papel importante, ya que diversos estudios indican que la sensibilidad al estrés (reactividad al estrés) varía entre cepas de ratas (Bielajew y cols., 2003; Dhabhar y cols., 1997; Gomez y cols., 1996; Sarrieau y cols., 1998) y ratones (Anisman y cols., 1998; Anisman y cols., 2001; Shanks y Anisman, 1988; Shanks y cols., 1990; Tannenbaum y Anisman, 2003). También existen datos de que la disminución del consumo de sacarosa tras la aplicación del EMC depende de la cepa utilizada (Duccottet y Belzung, 2005; Nielsen y cols., 2000; Pothion y cols., 2004). En esta misma línea podemos señalar la aparición de diferencias interindividuales en la sensibilidad al refuerzo cuando la medida se realiza a través de la conducta de AEIC (Nielsen y cols., 2000). Esta variabilidad podría ser comparable a lo que ocurre en humanos, en

los cuales el estrés no produce invariablemente alteraciones que desencadenen psicopatologías como la depresión.

Cuando la aplicación del estrés se prolonga hasta las siete semanas se observa que los sujetos estresados invierten significativamente más tiempo que los controles en el compartimiento oscuro del test de CPL (fase pre-test), indicando que tras un estrés crónico, los sujetos prefieren un lugar menos ansiógeno quizá relacionado con sus mayores niveles de ansiedad (Belzung y cols., 1987). De acuerdo con esto, existen datos que muestran que animales expuestos a un régimen de estresores crónicos, permanecen durante más tiempo en una cámara oscura y realizan menos tránsito a un espacio abierto iluminado, conducta que se ha relacionado con un mayor nivel de ansiedad en estos sujetos (Tannenbaum y cols., 2002). Igualmente se ha encontrado que el estrés medio crónico aumenta la ansiedad medida en el test de laberinto elevado, aunque no siempre los datos son consistentes (Griebel y cols., 2002b). Aunque no hubo diferencias entre los sujetos sometidos a estrés y los controles en el tiempo invertido en el compartimiento reforzado en la fase post-test, el aumento respecto a la fase pre-test fue mayor en los sujetos estresados, indicando un posible aumento de la sensibilidad a la recompensa producido por el estrés. Datos similares han sido ya referidos por otros autores utilizando CPL con cocaína como refuerzo (Haile y cols., 2001) y la conducta de AEIC (Linn y cols., 2002; Nielsen y cols., 2000) como medida de la sensibilidad al refuerzo. La sensibilización de los mecanismos dopaminérgicos producida por el estrés se ha sugerido como mecanismo mediador en el efectos del estrés sobre el aumento de la vulnerabilidad al abuso de drogas (Yavich y Tiihonen, 2000). De acuerdo con esto, podemos señalar que existen datos que muestran un aumento de la conducta de abuso de drogas en sujetos sometidos a otro tipo de estrés, como el estrés social (Miczek y cols., 2004; Sinha, 2001). Datos en humanos muestran también la existencia de comorbilidad de trastornos relacionados con el estrés y el abuso de sustancias (Jacobsen y cols., 2001; Kilpatrick y cols., 2000; Sinha, 2001).

Nuestro resultados indican que la aplicación de una, tres y siete semanas de EMC no produce cambios en la capacidad proliferativa de las células

esplenocíticas en ratones. Aunque existen datos que muestran que el EMC de diferente duración disminuye la capacidad proliferativa de los linfocitos T en el bazo ante la estimulación con mitógenos en ratas y ratones (Ayelli-Edgar y cols., 2002; Ayelli-Edgar y cols., 2003; Kubera y cols., 1998; Silberman y cols., 2002; Silberman y cols., 2003; Silberman y cols., 2004), otros trabajos, tampoco encuentran diferencias (Kubera y cols., 1995; Silberman y cols., 2002), o incluso muestran un aumento de la proliferación en ratones sometidos a cuatro y siete semanas de EMC (Azpiroz y cols., 1999). En general, los datos existentes indican una gran variabilidad del efecto del EMC sobre la respuesta inmunitaria celular.

El EMC aplicado durante una y tres semanas no produjo grandes cambios en la actividad serotoninérgica observándose únicamente un aumento de ésta tras tres semanas de estrés en relación a los sujetos controles de una semana. También se observó un aumento de la actividad dopaminérgica en los sujetos que fueron sometidos a estrés medio crónico durante tres semanas respecto al resto de los grupos. Aunque no todos los datos procedentes de las investigaciones son consistentes (Bekris y cols., 2005), el aumento de la actividad serotoninérgica y dopaminérgica hipotalámica ha sido asociado con la respuesta de estrés (Bruni y cols., 1982; Fuller, 1996; Gibbs y Vale, 1983). Tal y como ya hemos comentado en el caso de estrés social, animales sometidos a diferentes estresores presentan un aumento del ratio de 5HIAA/5-HT y DOPAC/DA en diversas áreas cerebrales y presentan cambios conductuales indicativos de ansiedad (Graeff y cols., 1997; Kaehler y cols., 2000; Talalalenko y cols., 2001; Tidey y Miczek, 1996; Wu y cols., 1999).

La aplicación de un estrés crónico de siete semanas mostró un efecto significativo de la interacción entre el estrés y el tratamiento con fluoxetina en relación a la actividad serotoninérgica, indicando que la fluoxetina impide la disminución de la actividad serotoninérgica que produce el estrés. Podríamos decir que la fluoxetina tiende a revertir los cambios producidos por el estrés medio crónico. Otros trabajos también señalan una normalización de los cambios en la transmisión serotoninérgica producidos por el estrés medio crónico cuando

los sujetos fueron tratados con fluoxetina (Li y cols., 2003) y otros antidepresivos como la imipramina (Bekris y cols., 2005).

El EMC, no produjo cambios en los niveles basales de corticosterona en ninguno de los tiempos estudiados. Este resultado es similar al hallado previamente en otros trabajos (Ayelli-Edgar y cols., 2003; Gronli y cols., 2004; Silberman y cols., 2002; Silberman y cols., 2003; Silberman y cols., 2004), así como en nuestro laboratorio (Azpiroz y cols., 1999). No podemos descartar, sin embargo, diferencias en la respuesta del eje HPA inmediatas a la aplicación de los estímulos estresantes que hayan afectado a otras variables fisiológicas del animal y una posterior adaptación del eje (Mizoguchi y cols., 2001). Por otra parte, la falta de una observación consistente de un aumento de niveles de corticosterona relacionados con el EMC podría ser debida a diferencias genéticas que se manifiestan en diferencias individuales en la respuesta de estrés (Ayelli-Edgar y cols., 2003; Ayensu y cols., 1995; Bielajew y cols., 2002; Duncko y cols., 2001b; Grippo y cols., 2005b) y a que las concentraciones de glucocorticoides que muestran los roedores en situaciones de estrés crónico son muy variables (Rivier y Vale, 1987; Young y Akil, 1985). La baja respuesta del eje HPA podría indicar que los estresores utilizados en el estrés medio crónico son de baja intensidad, ya que se ha demostrado una correlación de la intensidad del estrés con los niveles de corticosterona (Hennessy y cols., 1979; Odio y Maickel, 1985; Pacak y cols., 1995).

Podemos concluir, por los datos ya comentados, que el modelo de EMC ha resultado ser un modelo que presenta dificultades a la hora de replicar o reproducir los resultados que apoyan su validez como modelo de depresión. No obstante, hay que tener en cuenta que los estresores pueden elicitar respuestas neuroquímicas heterogéneas en los diferentes individuos, conduciendo a resultados psicológicos diferentes y, posiblemente, a diferentes patologías conductuales. Con todo ello, aunque inicialmente el EMC se propuso como modelo animal de depresión, algunos autores proponen su validez para estudiar la patofisiología de los trastornos derivados del estrés: depresión, ansiedad, abuso

de drogas, más que como modelo de depresión para investigar nuevos antidepresivos (Anisman y Matheson, 2005)..

CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos en nuestra investigación podemos extraer las siguientes conclusiones:

1.- El estrés social producido por una experiencia de 9 días de derrota produce cambios conductuales (aumento de postura de vigilancia extrema y menos defensa activa en relación a un estrés de 23 días) relacionados con un estado de ansiedad.

2.- Un estrés social de diferente duración, producido tanto por una experiencia de 9, de 23, como de 52 días de derrota produce un claro efecto inmunosupresor.

3.- El efecto del estrés social sobre la actividad serotoninérgica y dopaminérgica hipotalámica parece depender del número de derrotas a los cuales se expone al sujeto. Únicamente 9 experiencias de derrota dan lugar a un aumento significativo de la actividad de estos neurotransmisores, que podría estar relacionado con el estado de ansiedad observado.

4.- El efecto inmunosupresor producido por el estrés social de diferente duración (9 o 23 días) no parece estar relacionado con los cambios en la actividad serotoninérgica y dopaminérgica y tampoco parece estar mediado por la corticosterona.

5.- El tratamiento crónico con fluoxetina tiene un efecto ansiolítico, produciendo una mejoría conductual (disminución de la inmovilidad y aumento de la huida) en los sujetos derrotados sometidos a un estrés social de larga duración.

6.- El tratamiento crónico con fluoxetina protege a los sujetos de la inmunosupresión producida por un estrés social de larga duración y este efecto no parece estar mediado por cambios en la actividad serotoninérgica.

7.- El estrés social de larga duración produce una disminución de los niveles basales de corticosterona y el tratamiento crónico con fluoxetina revierte este efecto.

8.- El EMC de tres semanas de duración no produce cambios en la sensibilidad a la recompensa medida en la prueba de condicionamiento de lugar, a pesar de que se observa un aumento de la actividad dopaminérgica en los sujetos estresados.

9.- Cuando la aplicación del EMC se prolonga hasta 7 semanas, los sujetos estresados muestran preferencia por el compartimiento oscuro en la fase pre-test, indicando un estado de ansiedad.

10.- EL aumento del tiempo invertido en la fase post-test en el compartimiento reforzado respecto al invertido en el mismo compartimiento en la fase pre-test fue mayor en los sujetos estresados, indicando un posible aumento de la sensibilidad a la recompensa producido por el EMC de 7 semanas de duración.

11.- El EMC de diferente duración (3 y 7 semanas) no produce cambios en la actividad inmunitaria, ni tampoco en los niveles de corticosterona.

12.- El tratamiento con fluoxetina impide la disminución de la actividad serotoninérgica que produce un EMC de 7 semanas.

13.- EL conjunto de datos obtenidos tras la aplicación de ambos tipos de estrés, el estrés social y EMC, muestran un mayor impacto del estrés social a la hora de producir cambios tanto conductuales como fisiológicos, que podría atribuirse a la mayor repercusión de los estímulos sociales sobre los individuos.

BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA.

- Aarons, R y Molinoff, P. (1982). Changes in the density of beta-adrenergic receptors in rat lymphocytes, heart, and lung after chronic treatment with propranolol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 221, 439-43.
- Aberg-Wistedt, A, Wistedt, B y Bertilsson, L. (1985). Higher CSF levels of HVA and 5-HIAA delusional compared to nondelusional depression. *Archives of General Psychiatry*, 42, 925-26.
- Ader, R y Cohen, N. (1975). Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosomatic Medicine*, 37 (333-40).
- Ader, R, Felten, D y Cohen, F. (1991). Psychoneuroimmunology.
- Ader, R, Cohen, N y Felten, D. (1995). Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. *The Lancet*, 345 (January 14), 99-103.
- Ader, R, Felten, D y Cohen, N. (2001). Psychoneuroimmunology (3 ed.). San Diego: Academic Press.
- Albeck, D, McKittrick, C, Blanchard, D, Blanchard, R, Nikulina, J, McEwen, B y Sakai, R. (1997). Chronic social stress alters levels of corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin mRNA in rat brain. *The Journal of Neuroscience*, 17 (12), 4895-903.
- Alonso, R, Griebel, G, Pavone, G, Stemmelin, J, Le Fur, G y Soubrie, P. (2004). Blockade of CRF1 or V-1b receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Molecular Psychiatry*, 9 (3), 278-86.
- Altar, C. (1999). Neurotrophins and depression. *Trends in Pharmacological Sciences*, 20 (2), 59-61.
- Amstislavkaya, TG; Kudryavtseva, NN. (1997) Effect of repeated experience of victory and defeat in daily agonistic confrontations on brain tryptophan hydroxylase activity, 106-08 .
- Anderson, I. (1999). The new antidepressants. *Current Anaesthesia & Critical Care*, 10 (1), 32-39.

- Anguelova, M, Benkelfat, C y Turecki, G. (2003). A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: I. Affective disorders. *Molecular Psychiatry*, 8 (6), 574-91.
- Anisman, H, Baines, M, Berczi, I, Bernstein, C, Blennerhassett, M, Gorczynski, R, Greenberg, A, Kisil, F, Mathison, R, Nagy, E, Nance, D, Perdue, M, Pomeranz, D, Sabbadini, E, Stanisz, A y Warrington, R. (1996). Neuroimmune mechanisms in health and disease: 1. Health. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal = Journal De l'Association Medicale Canadienne*, 155 (7), 867-74.
- Anisman, H, Lacosta, S, Kent, P, McIntyre, D y Merali, Z. (1998). Stressor-induced corticotropin-releasing hormone, bombesin, ACTH and corticosterone variations in strains of mice differentially responsive to stressors. *Stress*, 2 (3), 209-20.
- Anisman, H, Hayley, S, Kelly, O, Borowski, T y Merali, Z. (2001). Psychogenic, neurogenic, and systemic stressor effects on plasma corticosterone and behavior: Mouse strain-dependent outcomes. *Behavioral Neuroscience*, 115 (2), 443-54.
- Anisman, H, Kokkinidis, L y Merali, Z. (2002). Further evidence for the depressive effects of cytokines: Anhedonia and neurochemical changes. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16 (5), 544-56.
- Anisman, H, Merali, Z y Hayley, S. (2003). Sensitization associated with stressors and cytokine treatments. *Brain, Behavior, and Immunity*, 17 (2), 86-93.
- Anisman, H y Matheson, K. (2005). Stress, depression, and anhedonia: Caveats concerning animal models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29 (4-5), 525-46.
- Arango, V, Ernsberger, P, Marzuk, P, Chen, J, Tierney, H, Stanley, M, Reis, D y Mann, J. (1990). Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5HT₂ and beta-adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Archives of General Psychiatry*, 47, 1038-47.
- Arato, M, Banki, C, Bissette, G y Nemeroff, C. (1989). Elevated CSF CRF in suicide victims. *Biological Psychiatry*, 25 (3), 355-59.
- Arborelius, L, Owens, M, Plotsky, P y Nemeroff, C. (1999). The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *Journal of Endocrinology*, 160 (1), 1-12.
- Arias, B, Gutierrez, B, Pintor, L, Gasto, C y Fananas, L. (2001). Variability in the 5-HT_{2A} receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression. *Molecular Psychiatry*, 6 (2), 239-42.

- Asberg, M, Thoren, P, Traskman, L, Bertilsson, L y Ringberger, V. (1976). "Serotonin depression"--a biochemical subgroup within the affective disorders? *Science*, *191* (4226), 478-80.
- Aune, T, Kelley, K, Ranges, G y Bombara, M. (1990). Serotonin-activated signal transduction via serotonin receptors on Jurkat cells. *The Journal of Immunology*, *145* (6), 1826-31.
- Aune, T, McGrath, K, Sarr, T, Bombara, M y Kelley, K. (1993). Expression of 5HT1a receptors on activated human T cells. Regulation of cyclic AMP levels and T cell proliferation by 5-hydroxytryptamine. *The Journal of Immunology*, *151* (3), 1175-83.
- Aune, T, Golden, H y McGrath, K. (1994). Inhibitors of serotonin synthesis and antagonists of serotonin 1A receptors inhibit T lymphocyte function in vitro and cell-mediated immunity in vivo. *The Journal of Immunology*, *153* (2), 489-98.
- Auphan, N, Di Donato, J, Rosette, C, Helmberg, A y Karin, M. (1995). Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-KB activity through induction of I κ B synthesis. *Science*, *270*, 283-90.
- Avgustinovich, D, Gorbach, O y Kudryavtseva, N. (1997). Comparative analysis of anxiety-like behavior in partition and plus-maze test after agonistic interaction in mice. *Physiology & Behavior*, *61*, 37-43.
- Avgustinovich, D, Lipina, T, Alekseyenko, O y Kudryavtseva, N. (1999). Changes in brain serotonergic activity in anxious losers. *Biogenic Amines*, *15* (4), 395-404.
- Avgustinovich, D, Alekseyenko, O y Tenditnik, M. (2001). Fighting among C57BL/6J mice and its implications for [3H]8-hydroxy-N, N-dipropyl-2-aminotetralin binding in various brain regions. *Neuroscience Letters*, *305*, 189-92.
- Avgustinovich, D, Alekseyenko, O y Koryakina, L. (2003). Effects of chronic treatment with ipsapirone and buspiperone on the C57BL(6J) strain mice under social stress. *Life Sciences*, *72*, 1437-44.
- Avitsur, R, Stark, J y Sheridan, JF. (2001). Social stress induces glucocorticoid resistance in subordinate animals. *Hormones and Behavior*, *39*, 247-57.
- Ayelli-Edgar, V, Cremaschi, G, Genaro, A y Sterin-Borda, L. (1996). Efecto inmunomodulador de la fluoxetina sobre la actividad proliferativa de los linfocitos T murinos. *Medicina*, *56*, 627.

- Ayelli-Edgar, V, Sterin-Borda, L, Cremaschi, G y Genaro, A. (1999). Role of protein kinase C and cAMP in fluoxetine effects on human T-cell proliferation. *European Journal of Pharmacology*, 372, 65-73.
- Ayelli-Edgar, V, Cremaschi, G, Sterin-Borda, L y Genaro, A. (2002). Altered expression of autonomic neurotransmitter receptors and proliferative responses in lymphocytes from chronic mild stress model of depression: effects of fluoxetine. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16, 333-50.
- Ayelli-Edgar, V, Silberman, D, Cremaschi, G, Zieher, L y Genaro, A. (2003). Altered lymphocyte catecholamine reactivity in mice subjected to chronic mild stress. *Biochemical Pharmacology*, 65, 25-23.
- Ayensu, W, Pucilowsky, O, Mason, G, Overstreet, D, Rezvani, A y Janowsky, D. (1995). Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiology & Behavior*, 57 (1), 165-69.
- Azpiroz, A, Arregi, A, Fano, E, Garmendia, L y Sanchez, M, JR. (1994). Fighting experiences and natural killer cell activity in male laboratory mice. *Aggressive Behavior*, 20, 67-72.
- Azpiroz, A, Fano, E, Garmendia, L, Arregi, A, Cacho, R, Beitia, G y Brain, P. (1999). Effects of chronic mild stress (CMS) and imipramine administration, on spleen mononuclear cell proliferative response, serum corticosterone level and brain norepinephrine content in male mice. *Psychoneuroendocrinology*, 24, 345-61.
- Baker, S, Kentner, A, Konkle, A, Barbagallo, L y Bielajew, C. (2006). Behavioral and physiological effects of chronic mild stress in female rats. *Physiology & Behavior*, 87 (2), 314-22.
- Banki, C, Karmacsi, L, Bissette, G y Nemeroff, C. (1992). CSF corticotropin releasing hormone, somatostatin, and thyrotropin releasing hormone in schizophrenia. *Psychiatry Research*, 43 (1), 13-21.
- Bartolomucci, A, Palanza, P, Gaspani, L, Limiroli, E, Panerai, A, Ceresini, G, Poli, M y Parmigiani, S. (2001). Social status in mice: behavioral, endocrine and immune changes are context dependent. *Physiology & Behavior*, 73, 401-10.
- Bartolomucci, A, Palanza, P, Costoli, T, Savani, E, Laviola, G, Parmigiani, S y Sgoifo, A. (2003). Chronic psychosocial stress persistently alters autonomic function and physical activity in mice. *Physiology & Behavior*, 80 (1), 57-67.

- Basu, S y Dasgupta, P. (2000). Dopamine, a neurotransmitter, influences the immune system. *Journal of Neuroimmunology*, 102, 113-24.
- Baybutt, H y Holsboer, F. (1990). Inhibition of macrophage differentiation and function by cortisol. *Endocrinology*, 127, 476-80.
- Beden, S y Brain, P. (1982). Studies on the effects of social stress on measures of disease resistance in laboratory mice. *Aggressive Behavior*, 8, 126-29.
- Bekris, S, Antoniou, K, Daskas, S y Papadopoulou-Daifoti, Z. (2005). Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains. *Behavioural Brain Research*, 161 (1), 45-59.
- Belzung, C, Misslin, R, Vogel, E, Dodd, R y Chapouthier, G. (1987). Anxiogenic effects of methyl-beta-carboline-3-carboxylate in a light/dark choice situation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 28 (1), 29-33.
- Belzung, C, Le-Guisquet, A, Barreau, S y Calatayud, F. (2001). An investigation of the mechanisms responsible for acute fluoxetine-induced anxiogenic-like effects in mice. *Behavioural Pharmacology*, 12(3), 151-62.
- Bellinger, D, Felten, S y Felten, D. (1988). Maintenance of noradrenergic sympathetic innervation in the involuted thymus of the aged Fischer 344 rat. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2 (2), 133-50.
- Bellinger, D, Felten, S, Lorton, D y Felten, D. (1997). Inervation of lymphoid organs and neurotransmitter-lymphocyte interactions. In R W Keane & W F Hickey (Eds) *Immunity of the nervous system*. New York: Oxford University Press, 226-329.
- Belluardo, N, Mudo, G, Cardile, V, Migliorati, G, Riccardi, C, Cella, S y Bindoni, M. (1990). Hypothalamic control of the generation of mature natural killer lymphocytes in bone marrow and spleen of the mouse. *Natural Immunity And Cell Growth Regulation*, 9 (1), 26-35.
- Benelli, A, Filaferro, M, Bertolini, A y Genedani, S. (1999). Influence of S-adenosyl-L-methiotine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats. *Br J Pharmacol*, 127, 645-54.
- Beninger, R. (1983). The role of dopamine in locomotor activity and learnig. *Brain Research Reviews*, 6, 173-96.
- Berezi, I. (1994). The role of the growth and lactogenic family in immune function. *Neuroimmunomodulation*, 1, 201-16.

- Berlin, I, Warot, D, Legout, V, Guillemand, S, Schollnhammer, G y Puech, A. (1998). Blunted 5-HT_{1A}-receptor agonist-induced corticotropin and cortisol responses after long-term ipsapirone and fluoxetine administration to healthy subjects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 63 (4), 428-36.
- Bermudz, L, Wu, M y Young, S. (1990). Effects of stress-related hormones on macrophage receptors and response to tumor necrosis factor. *Lymphokine Research*, 9, 137-45.
- Bernton, E, Meltzer, M y Holaday, J. (1988). Suppression of macrophage activation and T-lymphocyte function in hypoprolactinemic mice. *Science*, 239 (4838), 401-04.
- Bernton, E, Bryant, H, Holaday, J y Dave, J. (1992). Prolactin and prolactin secretagogues reverse immunosuppression in mice treated with cysteamine, glucocorticoids, or cyclosporin-A. *Brain, Behavior and Immunity*, 6 (4), 394-408.
- Berton, O, Aguerre, S, Sarrieau, A, Mormede, P y Chaouloff, F. (1998). Differential effects of social stress on central serotonergic activity and emotional reactivity in Lewis and spontaneously hypertensive rats. *Neuroscience*, 82, 147-59.
- Berton, O, Durand, M, Aguerre, S, Mormède, P y Chaouloff, F. (1999). Behavioral, Neuroendocrine and Serotonergic consequences of single Social Defeat and repeated Fluoxetine pretreatment in the Lewis Rat Strain. *Neuroscience*, 92 (1), 337-41.
- Besedovsky, H, Sorkin, E, Keller, M y Muller, J. (1975). Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 150, 466-70.
- Besedovsky, H, Del rey, A, Sorkin, E y Dinarello, C. (1986). Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science*, 233, 652-54.
- Besedovsky, H y del Rey, A. (1988). Interactions between immunological cells and the hypothalamus pituitary-adrenal axis: an example of neuroendocrine immunoregulation. *Recenti Progressi In Medicina*, 79 (7-8), 300-04.
- Besedovsky, H y Del Rey, A. (1996). Immuno-neuro-endocrine interactions: Facts and hypotheses. *Endo Rev*, 17, 64.
- Besedovsky, H y Del Rey, A. (2002). Introduction: Immune-neuroendocrine network. *Frontiers of Hormone Research*, 29, 1-14.
- Bidart, J, Motte, P, Assicot, M, Bohoun, C y Belett, D. (1983). Catechol-o-methyltransferase activity and aminergic-binding site distribution in human peripheral blood lymphocyte subpopulations. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 26, 1-9.

- Biegon, A y Israeli, M. (1988). Regionally selective increases in beta-adrenergic receptor density in brains of suicide victims. *Brain Research*, 442, 199-203.
- Bielajew, C, Konkle, A y Merali, Z. (2002). The effects of chronic mild stress on male-Dawley and Long Evans rats. I. Biochemical and physiological analyses. *Behavioural Brain Research*, 136, 583-92.
- Bielajew, C, Konkle, A, Kentner, A, Baker, S, Stewart, A, Hutchins, A, Barbagallo, L y Fouriezos, G. (2003). Strain and gender specific effects in the forced swim test: Effects of previous stress exposure. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress*, 6 (4), 269-80.
- Bijak, M y Papp, M. (1995). The effect of chronic treatment with imipramine on the responsiveness of hippocampal CA1 neurons to phenylephrine and serotonin in a chronic mild stress model of depression. *European Neuropsychopharmacology*, 5, 43-48.
- Biondi, M y Picardi, A. (1996). Clinical and biological aspects of bereavement and loss-induced depression: a reappraisal. *Psychotherapy and Psychosomatics*, 65, 229-45.
- Biondi, M y Zannino, L. (1997). Psychological stress, neuroimmunomodulation, and susceptibility to infectious diseases in animals and man: A review. *Psychotherapy and Psychosomatics*, 66 (1), 3-26.
- Blalock, J y Smith, E. (1980). Human leukocyte interferon: structural and biological relatedness to adrenocorticotrophic hormone and endorphins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America U S A*, 77 (10), 5972-4.
- Blalock, J. (1984). The immune system as a sensory organ. *The Journal of Immunology*, 132 (3), 1067-70.
- Blalock, J, Bost, K y Smith, E. (1985a). Neuroendocrine peptide hormones and their receptors in the immune system. Production, processing and action. *Journal of Neuroimmunology*, 10 (1), 31-40.
- Blalock, J, Smith, E y Meyer, W. (1985b). The pituitary-adrenocortical axis and the immune system. *Clinics Endocrinology and Metabolism*, 14 (4), 1021-38.
- Blanchard, D y Blanchard, R. (1990). Behavioral correlates of chronic dominance-subordination relationships of male rats in seminatural situation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 14, 455-62.

- Blanchard, D, Cholvanich, P, Blanchard, R, Clow, D, Hammer, R, Rowlett, J y Bardo, M. (1991). Serotonin, but not dopamine metabolites are increased in selected brain regions of subordinate male rats in a colony environment. *Brain Research*, 568, 61-66.
- Blanchard, D, Sakai, R, McEwen, B, Weiss, S y Blanchard, R. (1993). Subordination stress: Behavioral, brain, and neuroendocrine correlates. *Behavioural Brain Research*, 58, 113-21.
- Blanchard, D, Spencer, R, Weis, S, Blanchard, S, McEwen, B y Sakai, R. (1995). The Visible burrow system as a model of chronic social stress: behavioral and neuroendocrine correlates. *Psychoneuroendocrinology*, 20, 117-34.
- Blanchard, D, Griebel, G y Blanchard, R. (2001a). Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25 (3), 205-18.
- Blanchard, R, Flannelly, K y Blanchard, D. (1988). Life-span studies of dominance and aggression in established colonies of laboratory rats. *Physiology & Behavior*, 43 (1), 1-7.
- Blanchard, R, Hebert, M, Sakai, R, McKittrick, C, Henrie, A, Yudko, E, McEwen, B y Blanchard, D. (1998). Chronic Social Stress: Changes in behavioral and physiological indices of emotion. *Aggressive Behavior*, 24, 307-21.
- Blanchard, R, McKittrick, C y Blanchard, D. (2001b). Animal models of social stress: Effects on behavior and brain neurochemical systems. *Physiology & Behavior*, 73, 261-71.
- Blanchard, R, Yudko, E, Dullog, L y Blanchard, D. (2001c). Defense changes in estress-nonresponsive subordinate males in a visible Burrow System. *Physiology & Behavior*, 72 (635-642).
- Blier, P. (2003). The pharmacology of putative early-onset antidepressant strategies. *European Neuropsychopharmacology*, 13 (2), 57-66.
- Bohus, B, Koolhaas, J, Heijnen, C y De-Boer, O. (1993). Immunological responses to social stress: Dependence of social environment and coping abilities. *Neuropsychobiology*, 28, 95-99.
- Brain, P. (1972). Endocrine and behavioural differences between dominant and subordinate male house mice in pairs. *Psychonomic Science*, 28, 260-62.

- Brain, P. (1980). Adaptive aspects of hormonal correlates of attack and defence in laboratory mice: A study in ethobiology. *Progress In Brain Research*, 53, 391-413.
- Brain, P. (1984). Comments on laboratory-based aggression test. *Animal Behaviour*, 32, 4-5.
- Bruni, J, Hawkins, RL y Yen, S. (1982). Serotonergic mechanism in the control of [beta]-endorphin and acth release in male rats. *Life Sciences*, 30 (15), 1247-54.
- Bunney, W y Davis, J. (1965). Norepinephrine in depressive reactions. A review. *Archives of General Psychiatry*, 13 (6), 483-94.
- Buwalda, B, Felszeghy, K, Horvath, K, Nyakas, C, de Boer, S, Bohus, B y Koolhaas, J. (2001). Temporal and spatial dynamics of corticosteroid receptor down-regulation in rat brain following social defeat. *Physiology & Behavior*, 72 (3), 349-54.
- Buwalda, B, Kole, M, Veenema, A, Huininga, M, de Boer, S, Korte, S y Koolhaas, J. (2005). Long-term effects of social stress on brain and behavior: a focus on hippocampal functioning. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29 (1), 83-97.
- Cacho, R, Fano, E, Areso, P, Garmendia, L, Vegas, O, Brain, P y Azpiroz, A. (2003). Endocrine and lymphoproliferative response changes produced by social stress in mice. *Physiology & Behavior*, 78, 505-12.
- Calvano, S, Mark, D, Good, R y Fernandes, G. (1982). In vitro assessment of immune function in adrenalectomized rats. *Immunopharmacology*, 4, 291-302.
- Camacho, A y Dimsdale, J. (2000). Platelets and psychiatry: lessons learned from old and new studies. *Psychosomatic Medicine*, 62 (3), 326-36.
- Cannon, W. (1929). Bodily changes in pain, hunger, fear and rage: An account into the function of emotional excitement. Nueva York. Appleton.
- Cannon, W. (1932). The wisdom of the body. Nueva York. Norton.
- Caplan, R, Cobb, S y French, J. (1979). White collar work load and cortisol: disruption of a circadian rhythm by job stress? *Psychosom Res*, 23, 181-92.
- Carr, D, Rogers, T y Weber, R. (1996). The relevance of opioids and opioid receptors on immunocompetence and immune homeostasis. *Proceedings Of The Society For Experimental Biology And Medicine. Society For Experimental Biology And Medicine (New York, N.Y.)*, 213 (3), 248-57.

Bibliografía

- Caspi, A, Sugden, K, Moffitt, T, Taylor, A, Craig, I, Harrington, H, McClay, J, Mill, J, Martin, J, Braithwaite, A y Poulton, R. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, *301* (5631), 386-89.
- Claes, S. (2004). CRH, stress, and major depression: A psychobiological interplay. In *Vitamins and Hormones - Advances in Research and Applications*, *69*, 117-50).
- Coccaro, E, Kavoussi, R y Hauger, R. (1997). Serotonin function and antiaggressive response to fluoxetine: A pilot study. *Biological Psychiatry*, *42*, 546-52.
- Cohen, S y Herbert, T. (1996). Health Psychology: Psychological Factors and Physical Disease from the Perspective of Human Psychoneuroimmunology. *Annual Review of Psychology*, *47*, 113-42.
- Cohn, L. (1997). Glucocorticosteroids as immunosuppressive agents. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, *12*, 150-56.
- Constantino, R, Sekula, L, Rabin, B y Stone, C. (2000). Negative life experiences, depression, and immune function in abused and non-abused women. *Biological Research Nursing*, *1*, 190-98.
- Coventry, T, D'Aquila, P, Brain, P y Willner, P. (1997). Social influences on morphine conditioned place preference. *Behavioral Pharmacology*, *8*, 1-10.
- Cremaschi, G, Gorelik, G, Klecha, A, Lysionek, A y Genaro, A. (2000). Chronic stress influences the immune system through the thyroid axis. *Life Sciences*, *67* (26), 3171-79.
- Crook, T y Miller, N. (1985). The challenge of Alzheimer's disease. *The American Psychologist*, *40* (11), 1245-50.
- Czeh, B, Michaelis, T, Watanabe, T, Frahm, J, de Biurrun, G, van Kampen, M, Bartolomucci, A y Fuchs, E. (2001). Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, *98* (22), 12796-801.
- Charney, D. (2004). Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications of successful adaptation to extreme stress. *The American Journal of Psychiatry*, *161*, 195-216.
- Chauloff, F. (1993). Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. *Brain Research Reviews*, *18*, 1-32.

- Chauloff, F. (1995). Regulation of 5-HT receptors by corticosteroids: where do we stand? *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 9 (3), 219-33.
- Cheeta, S, Broekkamp, C y Willner, P. (1994). Stereospecific reversal of stress-induced anhedonia by mianserin and its (+)-enantiomer. *Psychopharmacology*, 116, 523-28.
- Cheeta, S, Ruigt, G, Van Proosdij, J y Willner, P. (1997). Changes in sleep architecture following chronic mild stress. *Biological Psychiatry*, 41 (4), 419-27.
- Cherry, N, Chen, Y y McDonald, J. (2006). Reported incidence and precipitating factors of work-related stress and mental ill-health in the United Kingdom (1996-2001). *Occupational Medicine-Oxford*, 56 (6), 414-21.
- Chung, K, Martinez, M y Herbert, J. (1999). Central serotonin depletion modulates the behavioural, endocrine and physiological responses to repeated social stress and subsequent c-fos expression in the brains of male rats. *Neuroscience*, 92 (2), 613-25.
- D'Aquila, P, Brain, P y Willner, P. (1994). Effects of chronic mild stress on performance in behavioural test relevant to anxiety and depression. *Physiology & Behavior*, 56 (5), 861-67.
- D'Aquila, P, Monleon, S, Borsini, F, Brain, P y Willner, P. (1997a). Anti-anhedonic actions of the novel serotonergic agent flibanserin, a potential rapidly-acting antidepressant. *European Journal of Pharmacology*, 340, 121-32.
- D'Aquila, P, Newton, J y Willner, P. (1997b). Diurnal variation in the effect of chronic mild stress on sucrose intake and preference. *Physiology & Behavior*, 62, 421-26.
- D'Aquila, P, Peana, A, Carboni, V y Serra, G. (2000a). Exploratory behaviour and grooming after repeated restraint and chronic mild stress: effect of desipramine. *European Journal of Pharmacology*, 399 (1), 43-47.
- D'Aquila, P, Peana, A, Carboni, V y Serra, G. (2000b). Different effect of desipramine on locomotor activity in quinpirole-treated rats after repeated restraint and chronic mild stress. *Journal of Psychopharmacology*, 14 (4), 347-52.
- D'Haenen, HA y Bossuyt, A. (1994). Dopamine D2 receptors in depression measured with single photon emission computed tomography. *Biological Psychiatry*, 35 (2), 128-32.

- D'haenen, H, Bossuyt, A, Mertens, J, Bossuyt-Piron, C, Gijsemans, M y Kaufmann, L. (1992). SPECT imaging of serotonin₂ receptors in depression. *Psychiatry Res Neuroimaging*, 45, 227-37.
- Dalla, C, Antoniou, K, Drossopoulou, G, Xagoraris, M, Kokras, N, Sfikakis, A y Papadopoulou-Daifoti, Z. (2005). Chronic mild stress impact: Are females more vulnerable? *Neuroscience*, 135 (3), 703-14.
- Dantzer, R. (2001). Stress, emotions and health: where do we stand. *Social Science Information*, 40, 61-78.
- Dantzer, R, Bluthé, R, Castanon, N, Chauvet, N, Capuron, L, Goodall, G, Kelley, K, Konsman, J, Layé, S, Parnet, P y Pousset, F. (2001). Cytokine effects on behavior. *En Felten, DL y Cohen, N (Eds.), Psychoneuroimmunology (Vol. 1, pp. 703-727). San Diego: Academic Press.*
- Dauge, V, Bertrand, E, Smadja, C, Fournie-Zaluska, M y Roques, B. (1996). Analysis of extracellular levels of met-enkephalin in the nucleus accumbens of rats submitted to a chronic unpredictable mild stress regimen. *Behavioural Pharmacology*, 7 (1), 24.
- Dawson, L, Hughes, Z, Starr, K, Storey, J, Bettelini, L, Bacchi, F, Arban, R, Poffe, A, Melotto, S, Hagan, J y Price, G. (2006). Characterisation of the selective 5-HT_{1B} receptor antagonist SB-616234-A (1-[6-(cis-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-2,3-dihydro-5-methoxyindol-1-yl]-1-[2'-methyl-4'-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)biphenyl-4-yl]methanone hydrochloride): In vivo neurochemical and behavioural evidence of anxiolytic/antidepressant activity. *Neuropharmacology*, 50 (8), 975-83.
- Daynes, R, Araneo, B, Hennebold, J, Enioutina, E y Mu, H. (1995). Steroids as regulators of the mammalian immune response. *Journal of Investigation Dermatology*, 105, 148-198.
- De Goij, D, Dijkstra, H y Tilders, F. (1992). Chronic psychosocial stress enhances vasopressin, but not corticotropin releasing factor, in the external zone of the median eminence of male rats: relationship to subordinate status. *Endocrinology*, 131, 847-53.
- De La Garza II, R. (2005). Endotoxin- or pro-inflammatory cytokine-induced sickness behavior as an animal model of depression: focus on anhedonia. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29 (4-5), 761-70.

- De parmentier, F, Cheetham, S, Crompton, M y Katona, C. (1991). Brain beta-adrenoceptor binding sites in depressed suicide victims: Effects of antidepressant treatment. *Psychopharmacology*, *105*, 283-88.
- De parmentier, F, Crompton, M, Katona, C y Horton, R. (1993). Beta-adrenoreceptors in brain and pineal from depressed suicide victims. *Pharmacology and Toxicology*, *71*, 86-95.
- De Vry, J, Schreiber, R, Melon, C, Dalmus, M y Jentsch, K. (2004). 5-HT_{1A} receptors are differentially involved in the anxiolytic- and antidepressant-like effects of 8-OH-DPAT and fluoxetine in the rat. *European Neuropsychopharmacology*, *14*, 487-95.
- Dekaris, D, Sabioncello, A y Mazuran, R. (1993). Multiple changes of immunologic parameters in prisoners of war. *Journal of the American Medical Association*, *270*, 595-99.
- Del Rey, A, Besedovsky, H y Sorkin, E. (1984). Endogenous blood levels in corticosterone control the immunological cell mass and B cell activity in mice. *Journal of Immunology*, *133*, 572-75.
- Delgado, M. (2003). VIP: A very important peptide in T helper differentiation. *Trends in immunology*, *24*, 221-24.
- Delville, Y, Melloni, R y Ferris, C. (1998). Behavioral and neurobiological consequences of social subjugation during puberty in golden hamsters. *The Journal of Neuroscience*, *18*, 2667-72.
- Deutch, A y Roth, R. (1990). The determinants of stress-induced activation of the prefrontal cortical dopamine system. *Prog Brain Research*, *85*, 367-402.
- Devanand, D, Bowers, M, Hoffman, F y Nelson, J. (1985). Elevated plasma homovanillic acid in depressed females with melancholia and psychosis. *Psychiatry Research*, *15* (1), 1-4.
- Devoino, L, Morozova, N y Cheido, M. (1988). Participation of serotonergic system in neuroimmunomodulation: intrainmune mechanisms and the pathways providing an inhibitory effect. *Int The Journal of Neuroscience*, *40*, 111-28.
- Devoino, L, Alperina, E, Kudryavtseva, N y Popova, N. (1993). Immune responses in male mice with aggressive and submissive behavior patterns: Strain differences. *Brain, Behavior and immunity*, *7*, 91-96.

- Devoino, L, Alperina, E y Pavina, T. (2003a). Immunological consequences of the reversal of social status in C57BL/6J mice. *Brain, Behavior and immunity*, 17, 28-34.
- Devoino, L, Alperina, E, Podgornaya, E, Polyakov, O, Idova, G y Ll'uchenok, R. (2003b). Nature of the Distribution of Serotonin and Serotonin Metabolite in Brain Structures and Development of Immunosuppression in Submissive Mice. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 33 (5), 473-77.
- Dhabhar, F, McEwen, B y Spencer, R. (1997). Adaptation to prolonged or repeated stress-- comparison between rat strains showing intrinsic differences in reactivity to acute stress. *Neuroendocrinology*, 65 (5), 360-8.
- Dijkstra, H, Tilders, F, Hiehle, M y Smelik, P. (1992). Hormonal reactions to fighting in rat colonies: Prolactin rises during defence, not during offence. *Physiology and Behavior*, 51, 961-68.
- Dimitroglou, E, Zafiropoulou, M, Messini-Nikolaki, N, Doudounakis, S, Tsilimigaki, S y Piperakis, S. (2003). DNA damage in a human population affected by chronic psychogenic stress. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 206 (1), 39-44.
- Dréau, D, Sonnenfeld, G, Fowler, N, Morton, D y Lyte, M. (1999). Effects of social conflict on immune responses and E. coli growth within closed chambers in mice. *Physiology and Behavior*, 67, 133-40.
- Duccottet, C, Griebel, G y Belzung, C. (2003). Effects of the selective nonpeptide corticotropin releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 27, 625-31.
- Duccottet, C, Aubert, A y Belzung, C. (2004). Susceptibility to subchronic unpredictable stress is related to individual reactivity to threat stimuli in mice. *Behavioural Brain Research*, 155, 291-99.
- Duccottet, C y Belzung, C. (2005). Correlations between behaviours in the elevated plus-maze test and sensitivity to unpredictable subchronic mild stress: evidence from inbred strains of mice. *Behavioural Brain Research*, 156, 153-62.
- Dulawa, S, Hollick, K, Gundersen, B y Hen, R. (2004). Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology*, 29 (7), 1321-30.

- Duman, R, Heninger, G y Nestler, E. (1997). A molecular and cellular theory of depression. *Archives of General Psychiatry*, 54 (7), 597-606.
- Duncan, G, Knapp, D, Carson, S y Breese, G. (1998). Differential effects of chronic antidepressant treatment on swim stress-and fluoxetine-induced secretion of corticosterone and progesterone. *Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 285 (2), 579-87.
- Duncan, W. (1996). Circadian rhythms and the pharmacology of affective illness. *Pharmacology & Therapeutics*, 71, 253-312.
- Duncko, R, Brtko, J, Kvetnansky, R y Jezova, D. (2001a). Altered function of peripheral organ systems in rats exposed to chronic mild stress model of depression. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 21 (4), 403-11.
- Duncko, R, Kiss, A, Skulteyová, I, Rusnak, M y Jeová, D. (2001b). Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in response to chronic mild stress rise in male but not in female rats while tyrosine hydroxylase mRNA levels decreased in both sexes. *Psychoneuroendocrinology*, 26, 77-89.
- Dunn, A y Berridge, C. (1990). Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: Is CRF a mediator of anxiety or stress responses? *Brain Research Reviews*, 15 (2), 71-100.
- Dunn, A, Swiergiel, A y Beaupaire, Rd. (2005). Cytokines as mediators of depression: What can we learn from animal studies? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29 (4-5), 891-909.
- Durand, M, Berton, O, Aguerre, S, Edno, L, Combourieu, I, Morméde, P y Chauloff, F. (1999). Effects of repeated fluoxetine on anxiety-related behaviors, central serotonergic system, and the corticotropic axis in SHR and WKY rats. *Neuropharmacology*, 38, 893-907.
- Dziedzicka-Wasylewska, M, Willner, P y Papp, M. (1997). Changes in dopamine receptor mRNA expression following chronic mild stress and chronic antidepressant treatment. *Behavioural Pharmacology*, 8, 607-18.
- Ehrstrom, S, Kornfeld, D, Thuresson, J y Rylander, E. (2005). Signs of chronic stress in women with recurrent candida vulvovaginitis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 193 (4), 1376-81.
- Elliot, G y Eisdorfer, C. (1982). Stress and human health. *Nueva York, Springer Verlaag*.

Bibliografía

- Engler, H, Bailey, M, Engler, A y Sheridan, J. (2004). Effects of repeated social stress on leukocyte distribution in bone marrow, peripheral blood and spleen. *Journal of Neuroimmunology*, 148 (1-2), 106-15.
- Esteban, S, Lladó, J y García-Sevilla, J. (1996). In vivo desensitization of $\alpha 2$ - and 5-HT1A - synthesis modulating receptors following long-term administration of antidepressant drugs. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 18, 46.
- Fano, E, Sánchez-Martín, J, Arregi, A, Castro, B, Alonso, A, Brain, P y Azpiroz, A. (2001). Social stress paradigms in male mice: Variations in behavior, stress and immunology. *Physiology & Behavior*, 73, 165-73.
- Faull, C, Rooke, P y Baylis, P. (1991). The effect of a highly specific serotonin agonist on osmoregulated vasopressin secretion in healthy man. *Clinical Endocrinology*, 35 (5), 423-30.
- Fawzy, F. (1995). Behavior and immunity. In: Kaplan, H I, Soderock, B J eds. *Comprehensive textbook of psychiatry*. Baltimore, Maryland: Williams and Wilkins, 1559-70.
- Feldman, E, Mayou, R, Hawton, K, Ardern, M y Smith, E. (1987). Psychiatric disorder in medical in-patients. *The Quarterly Journal of Medicine*, 63, 405-12.
- Felten, D, Felten, S, Carlson, S, Olschowka, J y Livnat, S. (1985). Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *Journal of Immunology*, 135 (2), 755-65.
- Felten, D, Felten, S, Bellinger, D, Carlson, S, Ackerman, K, Madden, K, Olschowki, J y Livnat, S. (1987). Noradrenergic sympathetic neural interactions with the immune system: structure and function. *Immunological Reviews*, 100, 225-60.
- Felten, D y Felten, S. (1988). Sympathetic noradrenergic innervation of immune organs. *Brain, Behavior and immunity*, 2 (4), 293-300.
- Felten, D. (1993). Direct innervation of lymphoid organs: substrate for neurotransmitter signaling of cells of the immune system. *Neuropsychobiology*, 28, 110-12.
- Felten, S, Felten, D, Bellinger, D, Carlson, S, Ackerman, K, Madden, K, Olschowka, J y Livnat, S. (1988). Noradrenergic sympathetic innervation of lymphoid organs. *Progress In Allergy*, 43, 14-36.
- Fernandes, G, Yunis, E y Good, R. (1975). Depression of cytotoxic T-cell subpopulation in mice by hidrocortisone treatment. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 4, 303-13.

- Filipenko, M, Beilina, A, Alekseyenko, O, Dolgog, V y Kudryavtseva, N. (2002a). Repeated experience of social defeats increases serotonin transporter and monoamine oxidase A mRNA levels in raphe nuclei of male mice. *Neuroscience Letters*, 321, 25-28.
- Filipenko, M, Bellina, A, Alekseyenko, O, Dolgog, V y Kudryavtseva, N. (2002b). Increase in expression of brain serotonin transporter and monoamine oxidase A genes induced by repeated experience of social defeats in male mice. *Biochemistry-Moscow*, 67 (4), 451-55.
- Flugge, G. (1995). Dynamics of central nervous 5HT1A-receptors under psychological stress. *The Journal of Neuroscience*, 15, 7132-40.
- Flugge, G. (1996). Alterations in the central nervous alpha2-adrenoceptor system under chronic psychosocial stress. *Neuroscience*, 75, 187-96.
- Flugge, G, Ahrens, O y Fuchs, E. (1997a). Beta-adrenoceptors in tree shrew brain: Time dependent effects of chronic psychosocial stress on 125-I-indocyanopindololbinding sites. *Cellular and Molecular neurobiology*, 17, 417-32.
- Flugge, G, Ahrens, O y Fuchs, E. (1997b). Monoamine receptors in the prefrontal cortex of *Tupaia belangeri* during chronic psychosocial stress. *Cell And Tissue Research*, 288 (1), 1-10.
- Flugge, G. (1999). Effects of cortisol on brain alpha2-adrenoceptors: potential role in stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23 (7), 949-56.
- Flugge, G. (2000). Regulation of monoamine receptors in the brain: Dynamic changes during stress. *International Review of Cytology. A survey of Cell Biology*, 195, 145-213.
- Flugge, G, Van Kampen, M y Mijster, M. (2004). Perturbations in brain monoamine systems during stress. *Cell And Tissue Research*, 315 (1), 1-14.
- Freire-Garabal, M, Nuñez, M, Losada, C, Pereiro, D, Riveiro, M, González-Patiño, E, Mayán, J y Rey-Méndez, M. (1997). Effects of fluoxetine on immunosuppressive response to stress in mice. *Life Sciences*, 60 (26), 403-13.
- Freire-Garabal, M, Nuñez, M, Riveiro, P, Balboa, J, López, P, Zamorano, B, Rodrigo, E y Rey-Méndez, M. (2002). Effects of fluoxetine on the activity of phagocytosis in stressed mice. *Life Sciences*, 72, 173-83.
- Friedman, E, Coe, C y Ershler, W. (1994). Bidirectional Effects of Interleukin-1 on Immune Responses in Rhesus Monkeys. *Brain, Behavior, and Immunity*, 8 (2), 87-99.

- Friedman, H, Klein, T y Friedman, A. (1996). Psychoneuroimmunology, stress, and infection: CRC.
- Friedman, S, Mason, J y Hanburg, D. (1963). Urinary 17-hydroxycorticosteroid levels in parents of children with neoplastic disease: a study of chronic psychological stress. *Psychosomatic Medicine*, 25, 364-76.
- Frimerman, M, Miller, M, Laniado, M y Keren, M. (1997). Changes in Hemostatic Function at Times of Cyclic Variation in Occupational Stress. *The American Journal of Cardiology*, 79 (1), 72-75.
- Froger, N, Palazzo, E, Boni, C, Hanoun, N, Saurini, F, Joubert, C, Dutriez-Casteloot, I, Enache, M, Maccari, S, Barden, N, Cohen-Salmon, C, Hamon, M y Lanfumey, L. (2004). Neurochemical and Behavioral Alterations in Glucocorticoid Receptor-Impaired Transgenic Mice after Chronic Mild Stress. *Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience.*, 24 (11), 2787-96.
- Fuchs, E y Flugge, G. (1995). Modulation of binding sites for corticotropin-releasing hormone by chronic psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinology*, 20, 33-51.
- Fuchs, E, Kramer, M, Hermes, B y Hiemke, C. (1996). Psychosocial stress in tree shrews: clomipramine counteract behavioral and endocrine changes. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 54, 219-28.
- Fuchs, E y Gould, E. (2000). In vivo neurogenesis in the adult brain: regulation and functional implications. *Eur The Journal of Neuroscience*, 12, 2211-4.
- Fujisaki, C, Utsuyama, M, Kuroda, Y, Watanabe, A, Seidler, H, Watanabe, S, Kitagawa, M y Hirokawa, K. (2002). An immunosuppressive drug, cyclosporine-A acts like anti-depressant for rats under unpredictable chronic stress. *Journal of Medical and Dental Sciences*, 50, 93-100.
- Fuller, R. (1996). Serotonin receptors involved in regulation of pituitary-adrenocortical function in rats. *Behavioural Brain Research*, 73 (1-2), 215-19.
- Gamaro, G, Manoli, L, Torres, I, Silveira, R y Dalmaz, C. (2003). Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochemistry International*, 42 (2), 107-14.
- Gambarana, C, Masi, F, Tagliamonte, A, Scheggi, S, Ghiglieri, O y De Montis, M. (1999). A chronic stress that impairs reactivity in rats also decreases dopaminergic transmission in the nucleus accumbens: A microdialysis study. *Journal of Neurochemistry*, 72 (5), 2039-46.

- Gambarana, C, Scheggi, S, Tagliamonte, A, Tolu, P y De Montis, M. (2001). Animal models for the study of antidepressant activity. *Brain Research Protocols*, 7 (1), 11-20.
- Ganea, D, Rodriguez, R y Delgado, M. (2003). Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide: players in innate and adaptive immunity. *Cellular And Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, 49 (2), 127-42.
- Ganong, W, Alper, R y Steels, M. (1985). Catecholamines as hormone regulator. *Raven Press. New York*, 13-18.
- Garbe, C y Kemble, E. (1994). Effects of prior agonistic experience on risk assessment and approach behavior evoked by familiar or unfamiliar conspecific odors. *Aggressive Behavior*, 20 (2), 143-9.
- Garcia-Sevilla, J, Escriba, P, Ozaita, A, La Harpe, R, Walzer, C, Eytan, A y Guimon, J. (1999). Up-regulation of immunolabeled [alpha](2A)-adrenoceptors, G(i) coupling proteins, and regulatory receptor kinases in the prefrontal cortex of depressed suicides. *Journal of Neurochemistry*, 72 (1), 282-91.
- Garciamarquez, C y Armario, A. (1987). Chronic Stress Depresses Exploratory Activity and Behavioral Performance in the Forced Swimming Test without Altering Acth Response to a Novel Acute Stressor. *Physiology & Behavior*, 40 (1), 33-38.
- Garthwaite, T y Hagen, T. (1979). Evidence that serotonin stimulates a prolactin-releasing factor in the rat. *Neuroendocrinology*, 29, 215-20.
- Gatti, G, Cavallo, R, Sartori, M, Del Ponte, D, Masera, R, Salvadori, A, Carignola, R y Angeli, A. (1987). Inhibition by cortisol of human natural killer (NK) cell activity. *Journal of Steroids and Biochemistry*, 26, 49-58.
- Geraciotti, T, Baker, D, Ekhtor, N, West, S, Hill, K, Bruce, A, Schmidt, D, Rounds-Kluger, B, Yehuda, R, Keck, P y Kaslow, J. (2001). CSF norepinephrine concentrations in posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 158, 1227-30.
- Gerra, G, Zaimovic, A, Mascetti, G, Gardini, S, Zambelli, U, Timpano, M, Raggi, M y Brambilla, F. (2001). Neuroendocrine responses to experimentally-induced psychological stress in healthy humans. *Psychoneuroendocrinology*, 26, 91-107.
- Ghosh, P, Sahu, A y Maiti, B. (1983). Leukocyte responses to fighting in the adult male bandicoot rat. *Acta Anatomica (Basel)*, 115, 263-65.

- Gibbs, D y Vale, W. (1983). Effect of the serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on corticotropin-releasing factor and vasopresin secretion into hypophysial portal blood. *Brain Research*, 280, 176-79.
- Gold, P y Chrousos, G. (2002). Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: High vs low CRH/NE states. *Molecular Psychiatry*, 7(3), 254-75.
- Gomez, F, Lahmame, A, de Kloet, E y Armario, A. (1996). Hypothalamic-pituitary-adrenal response to chronic stress in five inbred rat strains: differential responses are mainly located at the adrenocortical level. *Neuroendocrinology*, 63(4), 327-37.
- Goodkin, K, Feaster, D, Tuttle, R, Blaney, N, Kumar, M, Baum, M, Shapshak, P y Fletcher, M. (1996). Bereavement is associated with time-dependent decrements in cellular immune function in asymptomatic human immunodeficiency virus type 1-seropositive homosexual men. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 3(1), 109-18.
- Goodwin, G. (1996). How do antidepressants affect serotonin receptors? The role of serotonin receptors in the therapeutic and side effect profile of the SSRIs. *The Journal Of Clinical Psychiatry*, 57(Supplement 4), 9-13.
- Gourion, D, Perrin, E y Quintin, P. (2004). Fluoxetine : an update of its use in major depressive disorder in adults. *Encephale-Revue De Psychiatrie Clinique Biologique Et Therapeutique*, 30, 392-99.
- Graeff, F, Viana, M y Mora, P. (1997). Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neurosci Behav Rev*, 21, 791-99.
- Griebel, G. (1995). 5-Hidroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacological Therapeutics*, 65, 319-95.
- Griebel, G, Simiand, J, Serradeil-Le Gal, C, Wagnon, J, Pascal, M, Scatton, B, Maffrand, J y Soubrie, P. (2002a). Anxiolytic and antidepressant-like effects on the non-peptide vasopresin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America USA*, 99, 6370-75.
- Griebel, G, Simiand, J, Steinberg, R, Jung, M, Gully, D, Roger, P, Geslin, M, Scatton, B, Maffrand, J y Soubrie, P. (2002b). 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. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301 (1), 333-45.
- Griebel, G, Stemmelin, J y Scatton, B. (2005). Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant in models of emotional reactivity in rodents. *Biological Psychiatry*, 57 (3), 261-67.
- Griffiths, J, Ravindran, A, Merali, Z y Anisman, H. (2000). Dysthymia: A review of pharmacological and behavioral factors. *Molecular Psychiatry*, 5 (3), 242-61.
- Grippe, A, Moffitt, J y Jonhson, A. (2002). Cardiovascular alterations and autonomic imbalance in an experimental model of depression. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 282 (R), 1333-41.
- Grippe, A, Beltz, T y Johnson, A. (2003). Behavioral and cardiovascular changes in the chronic mild stress model of depression. *Physiology & Behavior*, 78, 703-10.
- Grippe, A, Na, E, Johnson, R, Beltz, T y Johnson, A. (2004a). Sucrose ingestion elicits reduced Fos expression in the nucleus accumbens of anhedonic rats. *Brain Research*, 1019 (1-2), 259-64.
- Grippe, A, Santos, C, Jonhson, R, Beltz, T, Martins, J, Felder, R y al, e. (2004b). Increased susceptibility to ventricular arritmias in a rodent model of experimental depression. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 286 (H), 619-26.
- Grippe, A, Beltz, T, Weiss, R y Johnson, A. (2005a). The Effects of Chronic Fluoxetine Treatment on Chronic Mild Stress-Induced Cardiovascular Changes and Anhedonia. *Biological Psychiatry*, 59 (4), 309-16
- Grippe, A, Francis, J, Beltz, T, Felder, R y Johnson, A. (2005b). Neuroendocrine and cytokine profile of chronic mild stress-induced anhedonia. *Physiology & Behavior*, 84 (5), 697-706.
- Grippe, A, Sullivan, N, Damjanoska, K, Crane, J, Carrasco, G, Shi, J, Chen, Z, Garcia, F, Muma, N y Van de Kar, L. (2005c). Chronic mild stress induces behavioral and physiological changes, and may alter serotonin 1A receptor function, in male and cycling female rats. *Psychopharmacology*, 179 (4), 769-80.

- Gronli, J, Murison, R, Bjorvatn, B, Sorensen, E, Portas, C y Ursin, H. (2004). Chronic mild stress affects sucrose intake and sleep in rats. *Behavioural Brain Research*, 150, 139-47.
- Gronli, J, Murison, R, Fiske, E, Bjorvatn, B, Sorensen, E, Portas, C y Ursin, R. (2005). Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. *Physiology & Behavior*, 84, 571-77.
- Grossi, G, Perski, A, Evengard, B, Blomkvist, V y Orth-Gomer, K. (2003). Physiological correlates of burnout among women. *Journal of Psychosomatic Research*, 55 (4), 309-16.
- Habib, K, Gold, P y Chrousos, G. (2001). Neuroendocrinology of stress. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 30 (3), 695-728.
- Haidkind, R, Eller, M, Harro, M, Kask, A, Rincken, A, Orelund, L y Harro, J. (2003). Effects of partial locus coeruleus denervation and chronic mild stress on behaviour and monoamine neurochemistry in the rat. *European Neuropsychopharmacology*, 13 (1), 19-28.
- Haile, C, GrandPre, T y Kosten, T. (2001). Chronic unpredictable stress, but not chronic predictable stress, enhances the sensitivity to the behavioral effects of cocaine in rats. *Psychopharmacology*, 154 (2), 213-20.
- Haller, J y Halasz, J. (2000). Anxiolytic effects of repeated victory in male Wistar rats. *Aggressive Behavior*, 26 (3), 257-61.
- Haney, M, Noda, K, Kream, R y Miczek, K. (1990). Regional serotonin and dopamine activity: Sensitivity to amphetamine and aggressive behavior in mice. *Aggressive Behavior*, 16 (3-4), 259-70.
- Haney, M, Maccari, S, Le Moal, M, Simon, H y Piazza, P. (1995). Social Stress increases the acquisition of cocaine self-administration in male and female rats. *Brain Research*, 98 (1-2), 46-52.
- Hara, N. (1986). The effect of hypothalamic lesions on the immune response in rats. *No To Shinkei. Brain And Nerve*, 38 (10), 911-16.
- Hardy, C, Quay, J, Livnat, S y Ader, R. (1990). Altered T-lymphocyte response following aggressive encounters in mice. *Physiology & Behavior*, 47, 1245-51.

- Hariri, A, Mattay, V, Tessitore, A, Kolachana, B, Fera, F, Goldman, D, Egan, M y Weinberger, D. (2002). Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science*, 297 (5580), 400-03.
- Harper, D, Tornatzky, W y Mickzek, K. (1996). Stress induced desorganisation of circadian and ultradian rhythms: comparison of effects of surgery and social stress. *Physiology & Behavior*, 59, 409-19.
- Harris, R, Zhou, J, Youngblood, B, Smagin, G y Ryan, D. (1997). Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress. *Physiology & Behavior*, 63 (1), 91-100.
- Harro, J, Haidkind, R, Harro, M, Modiri, A, Gillberg, P, Pahkla, R, Matto, V y Orelund, L. (1999). Chronic mild unpredictable stress after noradrenergic denervation: attenuation of behavioural and biochemical effects of DSP-4 treatment. *European Neuropsychopharmacology*, 10 (1), 5-16.
- Harro, J, Tonissaar, M, Eller, M, Kask, A y Orelund, L. (2001). Chronic variable stress and partial 5-HT denervation by parachloroamphetamine treatment in the rat: effects on behavior and monoamine neurochemistry. *Brain Research*, 899 (1-2), 227-39.
- Hatcher, J, Bell, D, Reed, T y Hagan, J. (1997). Chronic mild stress-induced reductions in saccharin intake depend upon feeding status, 11 (4), 331-8.
- Hayley, S, Kelly, O y Anisman, H. (2003). Murine tumor necrosis factor alpha sensitizes plasma corticosterone and manifestation of shock Modulation by histamine. *Journal of Neuroimmunology*, 131, 60-69.
- Hefco, V, Olariu, A, Hefco, A y Nabeshima, T. (2004). The modulator role of the hypothalamic paraventricular nucleus on immune responsiveness. *Brain, Behavior, and Immunity*, 18 (2), 158-65.
- Heijnen, C, Kavelaars, A y Ballieux, R. (1991). Beta-endorphin: cytokine and neuropeptide. *Immunological Reviews*, 119, 41-63.
- Heim, C, Ehlert, U y Hellhammer, D. (2000). The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Psychoneuroendocrinology*, 25, 1-35.
- Heinrichs, S, Fich, E, Mickzek, K, Britton, K y Koob, G. (1992). Corticotropin-releasing factor antagonist reduces emotionality in socially defeated rats via direct neurotrophic action. *Brain Research*, 581 (2), 190-7.

- Heinrichs, S, Menzaghi, F, Pich, E, Baldwin, H, Rassnick, S, Britton, K y Koob, G. (1994). Anti-stress action of a corticotropin-releasing factor antagonist on behavioral reactivity to stressors of varying type and intensity. *Neuropsychopharmacology*, *11* (3), 179-86.
- Hench, P, Kendall, E, Slocumb, C y Polley, H. (1949). The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxycorticosterone: Compound-e) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. *Mayo Clinic Proceedings*, *24*, 181.
- Hennessy, M, Heybach, J, Vernikos, J y Levine, S. (1979). Plasma corticosterone concentrations sensitively reflect levels of stimulus intensity in the rat. *Physiology & Behavior*, *22* (5), 821-25.
- Henry, J, Liu, Y, Nadra, W, Qian, C, Mormede, P, V y al., e. (1993). Psychosocial stress can induce chronic hypertension in normotensive strains of rats. *Hypertension*, *21*, 714-23.
- Herbert, T y Cohen, S. (1993). Depression and Immunity: A Meta-Analytic Review. *Psychological Bulletin*, *113* (3), 472-86.
- Heuser, I, Bissette, G, Dettling, M, Schweiger, U, Gotthardt, U, Schmider, J, Lammers, C, Nemeroff, C y Holsboer, F. (1998). Cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing hormone, vasopressin, and somatostatin in depressed patients and healthy controls: Response to amitriptyline treatment. *Depression and Anxiety*, *8* (2), 71-79.
- Hjorth, S y Auerbach, S. (1994). Further evidence for the importance of 5-HT-autoreceptor in the action of selective serotonin reuptake inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, *260*, 251-55.
- Holaday, J, Bryant, H, Kenner, J y Bernton, E. (1988). Pharmacologic manipulation of the endocrine-immune axis. *Progress in Neuroendocrinimmunology*, *1*, 6-10.
- Holmes, T y Rahe, R. (1967). The social readjustment rating scale. *J Psychosom Res*, *11*, 213-18.
- Holsboer, F. (2000). The Corticosteroid Receptor Hypothesis of Depression. *Neuropsychopharmacology*, *23* (5), 477-501.
- Huber, M y Bronson, F. (1980). Social modulation of spontaneous ejaculation in the mouse. *Behavioral and Neural Biology*, *29*, 390-93.

- Huether, G. (1996). The central adaptation syndrome: psychosocial Stress as a trigger for adaptive modifications of brain structure and brain function. *Progress in Neurobiology*, 48, 569-612.
- Huhman, K, Bunnell, B, Mougey, E y Meyerhoff, J. (1990). Effects of social conflict on pomc-derived peptides and glucocorticoids in male golden hamsters. *Physiology and Behavior*, 47, 949-56.
- Huhman, K, Moore, T, Ferris, C, Mougey, E y Meyerhoff, J. (1991). Acute and repeated exposure to social conflict in male golden hamsters: increases in plasma pomc-peptides and cortisol and decreases in plasma testosterone. *Hormones and Behavior*, 25, 206-16.
- Huhman, K, Mougey, E, Moore, T y Meyerhoff, J. (1995). Stressors, including social conflict, decrease plasma prolactin in male golden hamsters. *Hormones and Behavior*, 29, 581-92.
- Hukelbridge, F, Gamal-El-Din, L y Brain, P. (1981). Social status and the adrenal medulla in the house mouse (*Mus musculus*). *Behavioural and Neural Biology*, 33, 345-63.
- Idova, G, Cheido, M y Devoino, L. (1997). Modulation of the immune response by changing neuromediator system activity under stress. *Int. J. Immunopharmac.*, 19 (9/10), 535-40.
- Imperato, A, Cabib, S y Puglisi-Allegra, S. (1993). Repeated stressful experiences differently affect the time-dependent responses of the mesolimbic dopamine system to the stressor. *Brain Research*, 601 (1-2), 333-36.
- Irwin, J y Livnat, S. (1987). Behavioral influences on the immune system: stress and conditioning. *Prog Neuropsychopharmacol Biological Psychiatry*, 11 (2-3), 137-43.
- Irwin, M, Hauger, R, Brown, M y Britton, K. (1988). CRF activates autonomic nervous system and reduces cytotoxicity. *American Journal of Physiology*, 225, R744-R47.
- Irwin, M, Caldwell, C, Smith, T, Brown, S, Schuckit, M y Gillin, J. (1990). Major depressive disorder, alcoholism, and reduced natural killer cell cytotoxicity. *Archives of General Psychiatry*, 47, 713-18.
- Irwin, M. (1995). Psychoneuroimmunology of depression. In: Bloom, FE; Kupfer, DJ (Eds.), *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. Raven Press, New York, pp 983-988.

Bibliografía

- Irwin, M. (2002). Psychoneuroimmunology of Depression. *Brain, Behavior, and Immunity*, *16*, 1-16.
- Jacobs, B, Praag, H y Gage, F. (2000). Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Molecular Psychiatry*, *5* (3), 262-69.
- Jacobsen, L, Southwick, S y Kosten, T. (2001). Substance use disorders in patients with posttraumatic stress disorder: a review of the literature. *The American Journal Of Psychiatry*, *158* (8), 1184-90.
- Janowsky, D, El-Yousef, M, Davis, J y Sekerke, H. (1972). A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet*, *2* (7778), 632-5.
- Jessop, J, Gale, K y Bayer, B. (1987). Enhancement of rat lymphocyte proliferation after prolonged exposure to stress. *Journal of Neuroimmunology*, *16*, 261-71.
- Jessop, J, Gale, K y Bayer, B. (1988). Time-depending enhancement of lymphocyte activation by mitogens after exposure to isolation or water scheduling. *Life Sciences*, *43*, 1133-40.
- Jhanwar-Uniyal, M y Leibowitz, S. (1986). Impact of circulating corticosterone on [alpha]1- and [alpha]2-noradrenergic receptors in discrete brain areas. *Brain Research*, *368* (2), 404-08.
- Johnson, R, Storts, R, Welsh, J, TH, Welsh, CJ y Meagher, M. (2004). Social stress alters the severity of acute Theiler's virus infection. *Journal of Neuroimmunology*, *148* (1-2), 74-85.
- Jones, R y Nowell, N. (1973). Aversive effects of the urine of a male mouse upon the investigatory behaviour of its defeated oponent. *Animal Behaviour*, *21* (4), 707-10.
- Kaehler, S, Singwald, N, Sinner, C, Thurnher, C y Phillipu, A. (2000). Conditioned fear and inescapable shock modify the release of serotonin in the locus coeruleus. *Brain Research*, *859*, 249-54.
- Kar, N y Bastia, B. (2006). Post-traumatic stress disorder, depression and generalised anxiety disorder in adolescents after a natural disaster: a study of comorbidity. *Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health*, *2*, 17.
- Katz, R y Hersch, S. (1981). Amitriptyline and scopolamine in an animal model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *5* (2), 265-71.

- Katz, R, Roth, K y Carroll, B. (1981a). Acute and chronic effects on open field activity in the rat: implications of a model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 5 (2), 247-51.
- Katz, R, Roth, K y Schmaltz, K. (1981b). Amphetamine and tranylcypromine in an animal model of depression. Pharmacological specificity of the reversal effect. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 5 (2), 259-64.
- Katz, R. (1982). Animal model of depression: Tests of three structurally and pharmacologically novel antidepressant compounds. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 16 (6), 973-77.
- Katz, R y Baldrighi, G. (1982). A further parametric study of imipramine in an animal model of depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 16, 969-72.
- Katz, R y Sibel, M. (1982). Further analysis of the specificity of a novel animal model of depression-effects of an antihistaminic, antipsychotic and anxiolytic compound. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 16 (6), 979-82.
- Kaur, I, Simons, E, Castro, V, Mark Ott, C y Pierson, D. (2004). Changes in neutrophil functions in astronauts. *Brain, Behavior, and Immunity*, 18 (5), 443-50.
- Keeney, A y Hogg, S. (1999). Behavioural consequences of repeated social defeat in the mouse: preliminary evaluation of potential animal model of depression. *Behavioural Pharmacology*, 10, 753-64.
- Kelley, K, Bluthé, R, Dantzer, R, Zhou, J, Shen, W, Johnson, R y Broussarda, S. (2003). Cytokine-induced sickness behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, 17, S112-S18.
- Kendler, K, Hettema, J, Butera, F, Gardner, C y Prescott, C. (2003). Life event dimensions of loss, humiliation, entrapment, and danger in the prediction of onsets of major depression and generalized anxiety. *Archives of General Psychiatry*, 60 (8), 789-96.
- Kent, S, Bluthé, R, Kelley, K y Dantzer, R. (1992). Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13, 24-28.
- Kiecolt-Glaser, J, Fisher, L, Ogrocki, P, Stout, J, Speicher, C y Glaser, R. (1987). Marital quality, marital disruption, and immune function. *Psychosomatic Medicine*, 49 (1), 13-34.
- Kiecolt-Glaser, J, Glaser, R, Gravenstein, S y Malarkey, W. (1996). Chronic stress alters the immune response to influenza virus vaccine in older adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 3043-47.

- Kiecolt-Glaser, J y Glaser, R. (1999). Psychoneuroimmunology and cancer: fact or fiction? *European Journal of Cancer*, 35 (11), 1603-07.
- Kilpatrick, D, Acierno, R, Saunders, B, Resnick, H, Best, C y Schnurr, P. (2000). Risk Factors for Adolescent Substance Abuse and Dependence: Data From a National Sample. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 68 (1), 19-30.
- Kim, H, Imbert, J y Leonard, W. (2006). Both integrated and differential regulation of components of the IL-2/IL-2 receptor system. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 17 (5), 349-66.
- Klein, F, Lemaire, V, Sandi, C, Vitello, S, Van der Lorgt, J, Laurent, P, Neveu, P, Lemoal, M y Morméde, P. (1992). Prolonged increased corticosterone secretion by chronic social stress does not necessarily impair immune functions. *Life Sciences*, 50, 723-31.
- Klimek, V y Papp, M. (1994). The effect of MK-801 and imipramine on beta-adrenergic and 5HT2 receptors in the chronic mild stress model of depression in rats. *Polish Journal of Pharmacology*, 46, 67-69.
- Klimke, A, Larisch, R, Janz, A, Vosberg, H, Muller-Gartner, H y Gaebel, W. (1999). Dopamine D2 receptor binding before and after treatment of major depression measured by [123I]IBZM SPECT. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 90 (2), 91-101.
- Koh, K y Lee, B. (1996). Reduced lymphocyte proliferation and interleukin-2 production in anxiety disorders. *Psychosomatic Medicine*, 58, 80.
- Konkle, A, Baker, S, Kentner, A, Barbagallo, L, Merali, Z y Bielajew, C. (2003). Evaluation of the effects of chronic mild stressors on hedonic and physiological responses: sex and strain compared. *Brain Research*, 992 (2), 227-38.
- Konsman, J, Farnet, P y Dantzer, R. (2002). Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. *Trends in Neurosciences*, 25 (3), 154-59.
- Koolhaas, J, De Boer, S, De Ruiter, AH, Meerlo, P y Sgoifo, A. (1997). Social stress in rats and in mice. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, 161, 69-72.
- Koop, C, Vogel, E, Rettori, M, Delagrangé, P y Misslin, R. (1999). The effects of melatonin on the behavioral disturbances induced by chronic mild stress in C3H/He mice. *Behavioural Pharmacology*, 10, 73-83.
- Korte, S. (2001). Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25 (2), 117-42.

- Korte, S, Koolhaas, J, Wingfield, J y McEwen, B. (2005). The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and cost of allostasis load and trade-off in health and disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 3-38.
- Kramer, M, Hiemke, C y Fuchs, E. (1999). Chronic psychosocial stress and antidepressant treatment in tree shrews: time-dependent behavioral and endocrine effects. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23 (7), 937-47.
- Kronfol, Z y House, J. (1984). Depression, cortisol, and immune function. *Lancet*, 1984, 1026-27.
- Krueger, R, Lewy, E y Cathcart, E. (1984). Lymphocyte subsets in patients with major depression: preliminary findings. *Advances*, 1, 5-9.
- Krugers, H, Koolhaas, J, Medema, R y Korf, J. (1996). Prolonged subordination stress increases calbindin-d28k immunoreactivity in the rat hippocampal CA1 area. *Brain Research*, 729, 289-93.
- Kubera, M, Basta-Kaim, A y Papp, M. (1995). The effect of chronic treatment with imipramine on the immunoreactivity of animals subjected to chronic mild stress model of depression. *Immunopharmacology*, 30, 225-30.
- Kubera, M, Symbirtsev, A, Basta-Kaim, A, Borycz, J, Roman, A, Papp, M y Claesson, M. (1996). Effect of chronic treatment with imipramine on interleukin-1 and interleukin-2 production by splenocytes obtained from rats subjected to a chronic mild stress model of depression. *Polish Journal of Pharmacology*, 48, 503-06.
- Kubera, M, Basta-Kaim, A, Holan, V, Symbirtsev, A, Roman, A, Figareva, E y Sham, J. (1998). Effect of mild chronic stress, as a model of depression, on the immunoreactivity of C57BL/6 mice. *International journal of Immunopharmacology*, 20, 781 - 89.
- Kubera, M. (1999). Serotonin-immune interactions in major depression. In *Patterson PH, Kordon, C, Christen Y. Foundation IPSEN (eds), Neuroimmune interactions in Neurologic and Psychiatric Disorders. New York, Springer Verlag*, 79-88.
- Kubera, M, Kenis, G, Bosmans, E, Scharpe, S y Maes, M. (2000a). Effects of serotonin and serotonergic agonist and antagonist on the production of interferon-gamma and interleukin 10. *Neuropsychopharmacology*, 23, 89-98.
- Kubera, M, Symbirtsev, A, Mathison, R y Maes, M. (2000b). Effects of repeated fluoxetine and citalopran administration on cytokine release in C57BL/6 mice. *Psychiatry Research*, 63 (3), 255-66.

- Kubera, M, Maes, M, Holan, V, Basta-Kaim, A, Roman, A y Shani, J. (2001). Prolonged desipramine increases the production of interleukin-10, an anti-inflammatory cytokine, in C57BL/6 mice subjected to the chronic mild stress model of depression. *Journal of Affective Disorders*, *63*, 171-78.
- Kudryavtseva, N. (1991). A sensory contact model for the study of aggressive and submissive behavior in male mice. *Aggressive Behavior*, *17*, 285-91.
- Kudryavtseva, N, Bakshtanovskaya, I y Koryakina, L. (1991a). Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, *38*, 315-20.
- Kudryavtseva, N, Madorskaya, I y Bakshtanovskaya, I. (1991b). Social success and voluntary ethanol consumption in mice of C57BL/J and CBA/Lac strains. *Physiology & Behavior*, *50*, 143-46.
- Kudryavtseva, N. (1994). Experience of defeats decrease the behavioural reactivity to conspecific in the partition test. *Behavioural Processes*, *32*, 297-304.
- Kudryavtseva, N y Avgustinovich, D. (1998). Behavioral and physiological markers of experimental Depression Induced by Social Conflicts (DISC). *Aggressive Behavior*, *24*, 271-86.
- Kudryavtseva, N, Gerrits, M, Avgustinovich, D, Tenditnik, M y Van Ree, J. (2004). Modulation of anxiety-related behaviors by u- and k-opioid receptor agonists depends on the social status of mice. *Peptides*, *25*, 1355-63.
- Kureta, Y y Watanabe, S. (1996). Influence of social dominance of self-stimulation behavior in male golden hamsters. *Physiology & Behavior*, *59* (4-5), 621-4.
- Labeur, M, Arzt, E, Wieggers, G, Holsboer, F y Reul, J. (1995). Long-term intracerebroventricular corticotropin-releasing hormone administration induces distinct changes in rat splenocyte activation and cytokine expression. *Endocrinology*, *136* (6), 2678-88.
- Lahmeyer, H y Bellur, S. (1987). Cardiac regulation and depression. *Journal of Psychiatry Research*, *21*, 1-6.
- Larson, E y Summers, C. (2001). Serotonin reverses dominant social status. *Behavioural Brain Research*, *121* (1-2), 95-102.
- Laudenslager, M, Ryan, S, Drugan, R, Hyson, R y Maier, S. (1983). Coping and immunosuppression: inescapable but not escapable shock suppresses lymphocyte proliferation. *Science*, *221* (4610), 568-70.

- Lazarus, R y Cohen, J. (1977). Environmental stress. Human Behavior and the environment: current research. Altman, I. and Wohill, J.F. (eds.). New York, Plenum, 88-127.
- Le Poul, E, Laaris, N, Doucet, E, Laporte, AM, Hamon, M y Lanfumey, L. (1995). Early desensitization of somato-dendritic 5-HT_{1A} autoreceptors in rats treated with fluoxetine or paroxetine. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Of Pharmacology*, 352 (2), 141-48.
- Le Poul, E, Boni, C, Hanoun, N, Laporte, A, Laaris, N, Chauveau, J, Hamon, M y Lanfumey, L. (2000). Differential adaptation of brain 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors and 5-HT transporter in rats treated chronically with fluoxetine. *Neuropharmacology*, 39 (1), 110-22.
- Leonard, B. (1995). Stress and Immune system-immunological aspects of depressive illness. *In: Leonard, B; Miller, K (Eds.), Stress, the Immune system Psychiatry. Wiley, New York, pp 113-136.*
- Leonard, B y Song, C. (1996). Stress and the immune system in the etiology of anxiety and depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54 (1), 299-303.
- Lesch, K. (1991). 5-HT_{1A} receptor responsivity in anxiety disorders and depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 15, 723-33.
- Leshner, A y Roche, K. (1977). Comparison of the effects of Acth and lysine vasopressin on avoidance of attack in mice. *Physiology and Behavior*, 22, 531-34.
- Leshner, A. (1980). Effects of corticosterone on submissiveness in mice: Some temporal and theoretical considerations. *Physiology and Behavior*, 24, 283-88.
- Li, J, Kong, L, Wang, Y, Cheng, C, Zhang, W y Tan, W. (2003). Behavioral and biochemical studies on chronic mild stress models in rats treated with a Chinese traditional prescription Banxia-houpu decoction. *Life Sciences*, 74 (1), 55-73.
- Li, Q, Levy, D, Cabrera, T, Brownfield, M, Battaglia, G y Van de Kar, L. (1993). Long-term fluoxetine, but not desipramine, inhibits the ACTH and oxytocin responses to the 5-HT_{1A} agonist, 8-OH-DPAT, in male rats. *Brain Research*, 630, 148-56.
- Li, Q, Brownfield, M, Levy, A, Battaglia, G, Cabrera, T y Van de Kar, L. (1994). Attenuation of hormones response to the 5-HT_{1A} agonist ipsapirone by long-term treatment with fluoxetine, but not desipramine, in male rats. *Biological Psychiatry*, 36 (5), 300-08.

- Li, Q, Muma, N y Van de Kar, L. (1996). Chronic fluoxetine induces a gradual desensitization of 5-HT_{1A} receptors: reductions in hypothalamic and midbrain Gi and G(o) proteins and in neuroendocrine responses to a 5-HT_{1A} agonist. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 279, 1035-42.
- Li, Q, Muma, N, Battaglia, G y Van de Kar, L. (1997). A desensitization of hypothalamic 5-HT_{1A} receptors by repeated injections of paroxetine: reduction in the levels of G(i) and G(o) proteins and neuroendocrine responses, but not in the density of 5-HT_{1A} receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282, 1581-90.
- Licinio, J, Kling, M y Hauser, P. (1998). Cytokines and brain function: relevance to interferon-alpha-induced mood and cognitive changes. *Seminars In Oncology*, 25 (1, Supplement 1), 30-38.
- Liebmann, P, Wolfler, A, Felsner, P, Hofer, D y Schauenstein, K. (1997). Melatonin and the immune system. *International Archives Of Allergy And Immunology*, 112 (3), 203-11.
- Linn, D, Bruijnzeel, A, Schmidt, P y Markou, A. (2002). Exposure to chronic mild stress alters thresholds for lateral hypothalamic stimulation reward and subsequent responsiveness to amphetamine. *Neuroscience*, 114 (4), 925-33.
- Litte, K, Clarck, T, Ranc, J y Duncan, G. (1993). Beta-adrenergic receptor binding in frontal cortex from suicide victims. *Biological Psychiatry*, 34, 596-605.
- Long, S, Chowdury, S y Wilson, M. (1993). Differential effects of dominance status on sensitivity to cocaine in male rats. *Communications in Substance of Abuse*, 14, 227-50.
- López, J y Valdés, M. (2003). DSM-IV-TR: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Ed. Masson. Barcelona.
- Lorenz, O. (1967). On aggression. New York. Bantam Books.
- Lyte, M, Nelson, S y Baissa, B. (1990). Examination of neuroendocrine basis for the social conflict-induced enhancement of immunity in mice. *Physiology & Behavior*, 48, 685-91.
- Maes, M, Steves, W, Peeters, D, DeClerck, L, Scharpe, S, Bridts, C, Schotte, C y Cosyns, P. (1992). A study on the blunted natural killer cell activity in severely depressed patients. *Life Sciences*, 50 (7), 505-13.

- Maes, M, Delanghe, J, Ranjan, R, Meltzer, H, Desnyder, R, Cooreman, W y Scharpe, S. (1997). The acute phase protein in schizophrenia, mania, and major depression: Effects of pshychotropic drugs. *Psychiatry Research*, *66*, 1-11.
- Maes, M, Song, C, Lin, A, Bonaccorso, S, Kenis, G, De Jongh, R, Bosmans, E y Scharpe, S. (1999). Negative immunoregulatory effects of antidepressants: inhibition of interferon-gamma and stimulation of interleukin-10 secretion. *Neuropsychopharmacology*, *20* (4), 370-9.
- Magariños, A, McEwen, B, Flugge, G y Fuchs, E. (1996). Chronic psycho-social stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *Journal of Neuroscience*, *16*, 3334-40.
- Maier, S, Watkins, L y Fleshner, M. (1994). The interface between behavior, brain, and immunity. *American Psychologist*, *49* (12), 1004-17.
- Maier, S y Watkins, L. (1998). Cytokins for psychologists: Implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood and cognition. *Psychol. Rev.*, *105*, 83-107.
- Maier, S. (2003). Bi-directional immune-brain communication: Implications for understanding stress, pain and cognition. *Brain, Behavior, and Immunity*, *17*, 69-85.
- Maj, J. (1990). Behavioral effects of antidepressant drugs given repeatedly on the dopaminergic system. In: Gessa, G L; Serra, G (Eds.), *Dopamine and Mental Depression*. Pergamon Press, Oxford, 139-46.
- Manji, H, Moore, G y Chen, G. (2000). Clinical and preclinical evidence for the neurotrophic effects of mood stabilizers: implications for the pathophysiology and treatment of manic-depressive illness. *Biological Psychiatry*, *48* (8), 740-54.
- Mann, J, Stanley, M, McBride, P y McEwen, B. (1986). Increased serotonin₂ and beta-adrenergic receptor binding in the frontal cortices of suicide victims. *Archives of General Psychiatry*, *43*, 954-59.
- Marona-Lewicka, D y Nichols, DE. (1997). The effect of selective serotonin releasing agents in the chronic mild stress model of depression in rats. *Stress*, *2*, 91-100.
- Martinez, M, Calvo-Torrent, A y Pico-Alfonso, M. (1998). Social defeat and subordination as models of social stress in laboratory rodents. *Aggressive Behavior*, *24*, 241-56.
- Marx, J. (1995). How the glucocorticoids suppress immunity. *Science*, *270*, 232-33.

Bibliografía

- Matera, L, Cesano, A, Bellone, G y Oberholtzer, E. (1992). Modulatory effect of prolactin on the resting and mitogen induced activity of T, B and NK lymphocytes. *Brain, Behavior, and Immunology*, 6, 409-17.
- Matheson, F, Moineddin, R, Dunn, J, Creatore, M, Gozdyra, P y Glazier, R. (2006). Urban neighborhoods, chronic stress, gender and depression. *Social Science & Medicine*, 63 (10), 2604-16.
- Mathews, K, Forbes, N y Reid, I. (1995). Sucrose consumption as an hedonic measure following chronic unpredictable mild stress. *Physiology and Behavior*, 57 (2), 241-48.
- Mattson, M, Maudsley, S y Martin, B. (2004). BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends in Neurosciences*, 27 (10), 589-94.
- Mazur, A. (1985). A biosocial model of status in face-to-face primate groups. *Social Forces*, 64, 377-402.
- Mazur, A y Booth, A. (1998). Testosterone and dominance in men. *The Behavioral And Brain Sciences*, 21 (3), 353-63.
- McCullough, L y Salamone, J. (1992). Anxiogenic drugs beta-CCE and FG-7142 increase extracellular dopamine levels in nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 109, 379-82.
- McEwen, B y Stellar, E. (1993). Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Archives Of Internal Medicine*, 153 (18), 2093-101.
- McEwen, B. (1995). Stressful experience, brain and emotions: developmental, genetic, and hormonal influences. In Gazzaniga, M. (Ed.), *The cognitive neurosciences* (pp. 1117-35). Cambridge: MIT Press.
- McEwen, B. (1998). Protective and damaging effects of stress mediators. *New England Journal of Medicine*, 338, 171-79.
- McEwen, B. (2000). Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*, 22 (2), 108-24.
- McEwen, B. (2003). Mood disorders and allostatic load. *Biological Psychiatry*, 54 (3), 200-07.
- McEwen, B y Wingfield, J. (2003). The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior*, 43 (1), 2-15.

- McKeith, I, Marshall, E, Ferrier, I, Armstrong, M, Kennedy, W, Perry, R y Eccleston, D. (1987). 5HT receptor binding in post-mortem brain from patients with affective disorder. *J Affect Dis*, 13, 67-74.
- McKittrick, C, Blanchard, D, Blanchard, R, McEwen, B y Sakai, R. (1995). Serotonin receptor binding in a colony model of chronic social stress. *Biological Psychiatry*, 37, 383-93.
- Meerlo, P, Overkamp, G, Benning, M, Koolhaas, J y Van den Hoofdakker, R. (1996a). Long-term changes in open field behavior following a single social defeat in rats can be reversed by sleep deprivation. *Physiology & Behavior*, 60, 115-19.
- Meerlo, P, Overkamp, G, Daan, S, van den Hoofdakker, R y Koolhaas, J. (1996b). Changes in behaviour and body weight following a single or double social defeat in rats. *Stress*, 1 (1), 21-32.
- Meerlo, P, Pragt, B y Daan, S. (1997a). Social stress induces high intensity sleep in rats. *Neuroscience Letters*, 225, 41-44.
- Meerlo, P, van den Hoofdakker, R, Koolhaas, J y Daan, S. (1997b). Stress-induced changes in circadian rhythms of body temperature and activity in rats are not caused by pacemaker changes. *Journal of Biological Rhythms*, 12 (1), 80-92.
- Merlot, E, Moze, E, Dantzer, R y Neveu, P. (2004). Cytokine production by spleen cells after social defeat in mice: Activation of T cells and reduced inhibition by glucocorticoids. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress*, 7 (1), 55-61.
- Meyer, J, McMain, S, Kennedy, S, Korman, L, Brown, G, DaSilva, J, Wilson, A, Blak, T, Eynan-Harvey, R, Goulding, V, Houle, S y Links, P. (2003). Dysfunctional attitudes and 5-HT₂ receptors during depression and self-harm. *The American Journal Of Psychiatry*, 160 (1), 90-99.
- Miczek, K, Haney, M, Tidey, J, Vivian, J y Weerts, E. (1994). In: Reis AJ, Mizeck KA, Roth JA, editors. *Understanding and Preventing Violence, vol 2: Biobehavioral influences*. Washington, DC: National Academy Press, 245-513.
- Miczek, K y Mutschler, N. (1996). Activational effects of social stress on IV cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 128 (3), 256-64.
- Miczek, K, Covington, I, Nikulina, J y Hammer, R. (2004). Aggression and defeat: persistent effects on cocaine self-administration and gene expression in peptidergic and aminergic mesocorticolimbic circuits. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27 (8), 787-802.

- Mijnster, M, Isovich, E y Fuchs, E. (1998). Chronic psychosocial stress alters the density of dopamine D2-like binding sites. *Society of Neuroscience Abstracts*, 27, 415.
- Miller, A. (2003). Cytokines and sickness behavior: Implications for cancer care and control. *Brain, Behavior, and Immunity*, 17, S132-4.
- Miller, G, Cohen, S y Herbert, T. (1999). Pathways linking mayor depression and immunity in ambulatory female patients. *Psychosomatic Medicine*, 61, 850-60.
- Miller, G, Cohen, S y Ritchey, A. (2002). Chronic Psychological Stress and the Regulation of Pro-Inflammatory Cytokines: A Glucocorticoid-Resistance Model. *Health Psychology*, 21 (6), 531-41.
- Mineur, Y, Prasol, D, Belzung, C y Crusio, W. (2003). Agonistic behavior and unpredictable chronic mild stress in mice. *Behavior Genetics*, 33 (5), 513-19.
- Mitani, H, Shirayama, Y, Yamada, T y Kawahara, R. (2006). Plasma levels of homovanillic acid, 5-hydroxyindoleacetic acid and cortisol, and serotonin turnover in depressed patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 30 (3), 531-34.
- Mizoguchi, K, Yuzurihara, M, Shige, A, Sasaki, H, Chui, D-H y Tabira, T. (2001). Chronic stress differentially regulates glucocorticoid negative feedback response in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 26, 443-59.
- Molina, V, Heyser, C y Spear, L. (1994). Chronic Variable Stress or Chronic Morphine Facilitates Immobility in a Forced Swim Test - Reversal by Naloxone. *Psychopharmacology*, 114 (3), 433-40.
- Momartin, S, Silove, D, Manicavasagar, V y Steel, Z. (2004). Comorbidity of PTSD and depression: associations with trauma exposure, symptom severity and functional impairment in Bosnian refugees resettled in Australia. *Journal of Affective Disorders*, 80 (2-3), 231-38.
- Mongeau, R, Blier, P y de Montigny, C. (1997). The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatments. *Brain Research Reviews*, 23 (3), 145-95.
- Monleon, S, D'Aquila, P, Parra, A, Simon, V, Brain, P y Willner, P. (1995). Attenuation of sucrose consumption in mice by chronic mild stress and its restoration by imipramine. *Psychopharmacology*, 117, 453-57.

- Moreau, J, Jenck, F, Martrin, J, Mortas, P y Haefely, W. (1992). Antidepressant treatment prevents chronic unpredictable mild stress-induced anhedonia as assessed by ventral tegmentum self-stimulation behavior in rats. *European Neuropsychopharmacology*, 2, 43-49.
- Moreau, J, Jenck, F, Martin, J, Mortas, P y Haefely, W. (1993). Effects of Moclobemide, a New Generation Reversible Mao-a Inhibitor, in a Novel Animal-Model of Depression. *Pharmacopsychiatry*, 26 (1), 30-33.
- Moreau, J, Borgulya, J, Jenck, F y Martin, J. (1994a). Tolcapone: a potential new antidepressant detected in a novel animal model of depression. *Behavioural Pharmacology*, 5, 344-50.
- Moreau, J, Bourson, A, Jenck, F, Martin, J y Mortas, P. (1994b). Curative Effects of the Atypical Antidepressant Mianserin in the Chronic Mild Stress-Induced Anhedonia Model of Depression. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 19 (1), 51-56.
- Moreau, J, Scherschlicht, R, Jenck, F y Martín, J. (1995). Chronic mild stress-induced anhedonia model of depression sleep abnormalities and curative effects of electroshock treatment. *Behavioural Pharmacology*, 6 (7), 682-87.
- Moreau, J, Bos, M, Jenck, F, Martin, J, Mortas, P y Wichmann, J. (1996). 5-HT_{2C} receptor agonist exhibit antidepressant-like properties in the anhedonia model of depression in rats. *European Neuropsychopharmacology*, 6, 169-75.
- Mossner, R y Lesch, K. (1998). Role of serotonin in the immune system and in neuroimmune interactions. *Brain, Behavior and Immunity*, 12 (4), 249-71.
- Motulsky, H y Insel, P. (1982). Adrenergic receptors in man: direct identification, physiologic regulation, and clinical alteration. *New England Journal of Medicine*, 307, 18-29.
- Muñoz, C y Papp, M. (1999). Alnespirone (S20499) an agonist of 5-HT_{1A} receptors, and imipramine have similar activity in a chronic mild stress model of depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 63 (4), 647-53.
- Murison, R y Hansen, A. (2001). Reliability of the chronic mild stress paradigm: Implications for research and animal welfare. *Integrative Physiological and Behavioral Science*, 36 (4), 266-74.
- Murua, V, Gomez, R, Andrea, M y Molina, V. (1991). Shuttle-Box Deficits Induced by Chronic Variable Stress - Reversal by Imipramine Administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38 (1), 125-30.

- Muscat, R, Papp, M y Willner, P. (1992). Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and maprotiline. *Psychopharmacology*, 109, 433-38.
- Natelson, B, Ottenweller, J, Cook, J, Pitman, D, McCarthy, R y Tapp, W. (1988). Effect of stressor intensity on habituation of the adrenocortical stress response. *Physiology & Behavior*, 43, 41-46.
- Nemeroff, C, Widerlov, E, Bissette, G, Walleus, H, Karlsson, I, Eklund, K, Kilts, C, Loosen, P y Vale, W. (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science*, 226 (4680), 1342-44.
- Nemeroff, C, Bissette, G, Akil, H y Fink, M. (1991). Neuropeptide concentrations in the cerebrospinal fluid of depressed patients treated with electroconvulsive therapy. Corticotrophin-releasing factor, β -endorphin and somatostatin. *British Journal of Psychiatry*, 158 (JAN.), 59-63.
- Nemeroff, C. (1996). The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Molecular Psychiatry*, 1 (4), 336-42.
- Nestler, E, Gould, E, Manji, H, Bucan, M, Duman, R, Gershenfeld, H, Hen, R, Koester, S, Lederhendler, I, Meaney, M, Robbins, T, Winsky, L y Zalcman, S. (2002). Preclinical models: Status of basic research in depression. *Biological Psychiatry*, 52 (6), 503-28.
- Nestler, E y Carlezon, J, WA. (2006). The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression. *Biological Psychiatry*, 59 (12), 1151-59.
- Neumeister, A, Bain, E, Nugent, A, Carson, R, Bonne, O, Luckenbaugh, D, Eckelman, W, Herscovitch, P, Charney, D y Drevets, W. (2004). Reduced serotonin type 1A receptor binding in panic disorder. *The Journal Of Neuroscience: The Official Journal Of The Society For Neuroscience*, 24 (3), 589-91.
- Nielsen, C, Arnt, J y Sánchez, C. (2000). Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: interstrain and inteindividual differences. *Behavioural Brain Research*, 107, 21-33.
- Nock, B y Leshner, A. (1976). Hormonal mediation of the effects of defeat on agonistic responding in mice. *Physiology and Behavior*, 17, 111-19.
- Odio, M y Maickel, R. (1985). Comparative biochemical responses of rats to different stressful stimuli. *Physiology & Behavior*, 34 (4), 595-99.

- Ohl, F y Fuchs, E. (1998). Memory performance in tree shrews: effects of stressful experiences. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23 (2), 319-23.
- Ohl, F, Michaelis, T, Vollman-Honsdorf, G, Kirschbaum, C y Fuchs, E. (2000). Effect of chronic psychosocial stress and long term cortisol treatment on hippocampus-mediated memory and hippocampal volume: a pilot study in tree shrews. *Psychoneuroendocrinology*, 25, 35-36.
- Olsen, C y Carstensen, P. (2001). Chronic mild stress induced increase in responsiveness to reward in accompanied by increases in dopamine d2 receptor binding and expression of mRNA within the mesolimbic and nigro-striatal system. *Program No 415.6. Abstract Viewer/Itinerary Planner. Washington, Soc Neurosci. Online.*
- Ordway, G, Widdowson, P, Smith, K y Halaris, A. (1994). Agonist binding to alpha2-adrenoceptors is elevated in the locus coeruleus from victims of suicide. *Journal of Neurochemistry*, 63 (2), 617-24.
- Ossowska, G, Nowak, G, Kata, R, Klenk-Majewska, B, Danilczuk, Z y Zebrowska-Lupina, F. (2001). Brain monoamine receptors in a chronic unpredictable stress model in rats. *Journal of Neural Transmission*, 108 (3), 311-19.
- Ossowska, G, Danilczuk, Z, Klenk-Majewska, B, Czajkowski, L y Zebrowska-Lupina, I. (2004). Antidepressants in chronic unpredictable mild stress (CUMS)-induced deficit of fighting behavior. *Polish Journal of Pharmacology*, 56 (3), 305-11.
- Pacak, K, Palkovits, M, Kvetnansky, R, Yadid, G, Kopin, I y Goldstein, D. (1995). Effects of various stressors or in vivo norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and on the pituitary-adrenocortical axis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 771, 115-30.
- Padgett, D, Sheridan, J, Dorme, J, Berntson, G, Candelora, J y Glaser, R. (1998). Social stress and reactivation of latent herpes simplex virus type 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95 (12), 7231-5.
- Papp, M, Willner, P y Muscat, R. (1991). An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology*, 104, 255-59.
- Papp, M, Lappas, S, Muscat, R y Willner, P. (1992). Attenuation of place preference conditioning but not place aversion conditioning by chronic mild stress. *Journal of Psychopharmacology*, 6 (3), 352-56.

- Papp, M, Muscat, R y Willner, P. (1993a). Subsensitivity to rewarding and locomotor stimulant effects of a dopamine agonist following chronic mild stress. *Psychopharmacology*, *110*, 152-58.
- Papp, M, Willner, P y Muscat, R. (1993b). Behavioural sensitization to a dopamine agonist is associated with reversal of stress-induced anhedonia. *Psychopharmacology*, *110*, 159-64.
- Papp, M, Klimek, V y Willner, P. (1994a). Parallel changes in dopamine D2 receptor binding in limbic forebrain associated with chronic mild stress-induced anhedonia and its reversal by imipramine. *Psychopharmacology*, *115*, 441-46.
- Papp, M, Klimek, V y Willner, P. (1994b). Effects of imipramine on serptonegic and beta-adrenergic receptor binding in a realistic animal model of depression. *Psychopharmacology*, *114*, 309-14.
- Papp, M, Nalepa, I y Vetulani, J. (1994c). Reversal by imipramine of beta-adrenoreceptor up-regulation induced in a chronic mild stress model of depression. *European Journal of Pharmacology*, *261*, 141-47.
- Papp, M, Moryl, E y Willner, P. (1996). Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *European Journal of Pharmacology*, *296*, 129-36.
- Papp, M, Nalepa, I, Antkiewicz-Michaluk, L y Sánchez, C. (2002). Behavioural and biochemical studies of citalopram and WAY 100635 in rat chronic mild stress model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *72*, 465-74.
- Pardon, M, Gerardin, P, Joubert, C, Perez-Diaz, F y Cohen-Salmon, C. (2000). Influence of prepartum chronic ultramild stress on maternal pup care behavior in mice. *Biological Psychiatry*, *47* (10), 858-63.
- Pariante, C y Miller, A. (2001). Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biological Psychiatry*, *49* (5), 391-404.
- Parker, G, Wilhelm, K y Asghari, A. (1997). Early onset depression: the relevance of anxiety. *Social Psychiatry And Psychiatric Epidemiology*, *32* (1), 30-37.
- Parsey, R, Oquendo, M, Zea-Ponce, Y, Rodenhiser, J, Kegeles, L, Pratap, M, Cooper, T, Van Heertum, R, Mann, J y Laruelle, M. (2001). Dopamine D2 receptor availability and amphetamine-induced dopamine release in unipolar depression. *Biological Psychiatry*, *50* (5), 313-22.

- Pellegrino , T y Bayer, B. (1998). Modulation of immune cell function following fluoxetine administration in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *59*, 151-57.
- Pellegrino , T y Bayer, B. (2002). Role of central 5-HT₂ receptors in fluoxetine-induced decreases in T lymphocyte activity. *Brain, Behavior, and Immunity*, *16*, 87-103.
- Perez, V, Gilaberte, I, Faries, D, Alvarez, E y Artigas, F. (1997). Randomised, double blind, placebo controlled trial of pindolol in combination with fluoxetine antidepressant treatment. *Lancet*, *349*, 1594-97.
- Petito, J, Lysle, D, Garipey, J, Clubb, P, Cairns, R y Lewis, M. (1993). Genetic differences in social behavior: relation to natural killer cell function and susceptibility to tumor development. *Neuropsychopharmacology*, *8*, 35-43.
- Pezzone, M, Dohanics, J y Rabin, B. (1994). Effects of footshock stress upon spleen and peripheral blood lymphocyte mitogenic responses in rats with lesions of the paraventricular nuclei. *Journal of Neuroimmunology*, *53* (1), 39-46.
- Pflanz, S y Ogle, A. (2006). Job stress, depression, work performance, and perceptions of supervisors in military personnel. *Military Medicine*, *171* (9), 861-65.
- Pich, EM, Heinrichs, SC, Rivier, C, Mickzek, KA, Fisher, DA y Koob, GF. (1993). Blockade of pituitary-adrenal axis activation induced by peripheral immunoneutralization of corticotropin-releasing factor does not affect the behavioral response to social defeat stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, *18*, 495-507.
- Pothion, S, Bizot, J, Trovero, F y Belzung, C. (2004). Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behavioural Brain Research*, *155* (1), 135-46.
- Price, J. (1998). The adaptive function of mood change. *British Journal of Medical Psychology*, *71*, 465-77.
- Pucilowski, O, Overstreet, D, Rezvani, A y Janowsky, D. (1993). Chronic mild stress-induced anhedonia: Greater effect in a genetic rat model of depression. *Physiology & Behavior*, *54* (6), 1215-20.
- Qiu, Y, Peng, Y y Wang, J. (1996). Immunoregulatory role of neurotransmitters. *Advances in Neuroimmunology*, *6*, 223-31.
- Raab, A y Haedekamp, G. (1981). Impact of social conflict between mice on testosterone binding in central nervous system. *Neuroendocrinology*, *32*, 272-77.

- Raab, A, Dantzer, R, Michaud, B, Mormede, P, Taghzonti, K, Simon, H y Le-Moal, M. (1986). Behavioral, physiological and immunological consequences of social status and aggression in chronically coexisting resident-intruder dyads of male rats. *Physiology and Behavior*, 36, 223-28.
- Raap, D, Evans, S, Garcia, F, Li, Q, Muma, N, Wolf, W, Battaglia, G y Van De Kar, L. (1999a). Daily injections of fluoxetine induce dose-dependent desensitization of hypothalamic 5-HT(1A) receptors: Reductions in neuroendocrine responses to 8-OH-DPAT and in levels of G(z) and G(i) proteins. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 288 (1), 98-106.
- Raap, D, Garcia, N, Muma, N, Wolf, W, Battaglia, G y Van de Kar, L. (1999b). Sustained desensitization of hypothalamic 5-hydroxytryptamine1A receptors after discontinuation of fluoxetine: inhibited neuroendocrine responses to 8-hydroxy-2-(dipropylamino)tetralin in the absence of changes in Gi/o/z proteins. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 288, 561-67.
- Raap, D y Van de Kar, L. (1999). Selective serotonin reuptake inhibitors and neuroendocrine function. *Life Sciences*, 65 (12), 1217-35.
- Ramirez, F, Fowell, D, Puklavec, M, Simmonds, S y Mason, D. (1996). Glucocorticoids promote a Th2 cytokine response by CD4+ T cells in vitro. *Journal of immunology*, 156, 2406-12.
- Rawleigh, J, Kemble, E y Ostrem, J. (1993). Differential effects of prior dominance or subordination experience on conspecific odor preferences in mice. *Physiology and Behavior*, 54 (1), 35-9.
- Riley, V. (1981). Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia. *Science*, 212 (4499), 1100-09.
- Rivier, C y Vale, W. (1987). Diminished responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the rat during exposure to prolonged stress: a pituitary-mediated mechanism. *Endocrinology*, 121 (4), 1320-8.
- Roche, K y Leshner, A. (1979). Acth and vasopressin treatments immediately after a defeat increase future submissiveness in male mice. *Science*, 204, 1343-4.
- Rohde, P. (2001). The relevance of hierarchies, territories, defeat for depression in humans: hypotheses and clinical predictions. *Journal of Affective Disorders*, 65 (3), 221-30.
- Rosenbaum, J y Tollefson, G. (2006). Fluoxetina. In Schatzberg, A. y Nemeroff, C. (Eds.), *Tratado de Psicofarmacología* (pp. 249-65). Barcelona. Masson, SA.

- Rosenzweig, M y Leiman, A. (1992). *Psicología fisiológica* (Pérez Pamies, M. y Escobar, M., Trans. 2 ed.): McGraw Hill.
- Rotenberg, V, Sirota, P y Elizur, A. (1996). Psychoneuroimmunology: Searching for the deteriorating psychobehavioral factor. *Genetic, Social, and General Psychology Monographs*, 122 (3), 329-46.
- Rudisch, B y Nemeroff, C. (2003). Epidemiology of comorbid coronary artery disease and depression. *Biological Psychiatry*, 54 (3), 227-40.
- Rüther, E. (1989). Depression, circadian rhythms and trimipramine. *Drugs*, 38, 49-50.
- Rygula, R, Abumaria, N, Flugge, G, Fuchs, E, Ruther, E y Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress. *Behavioural Brain Research*, 162 (1), 127-34.
- Sachser, N y Lick, C. (1991). Social experience, behavior, and stress in guinea pigs. *Physiology and Behavior*, 50, 83-90.
- Sakami, S, Nakata, A, Yamamura, T y Kawamura, N. (2002). Psychological stress increases human T cell apoptosis in vitro. *Neuroimmunomodulation*, 10 (4), 224-31.
- Saltzman, W, Prudom, S, Schultz-Darken, N, Wittwer, D y Abbott, D. (2004). Social suppression of cortisol in female marmoset monkeys: Role of circulating ACTH levels and glucocorticoids negative feedback. *Psychoneuroendocrinology*, 29, 141-61.
- Sampson, D, Muscat, R y Willner, P. (1991). Reversal of antidepressant action by dopamine antagonist in an animal model of depression. *Psychopharmacology*, 104, 491-95.
- Sanchez, C y Meier, E. (1997). Behavioral profiles of SSRIs in animal models of depression, anxiety and aggression. Are they all alike? *Psychopharmacology*, 129 (3), 197-205.
- Sandi, C, Loscertales, M y Guaza, C. (1997). Experience-dependent Facilitating Effect of Corticosterone on Spatial Memory Formation in the Water Maze. *European Journal of Neuroscience*, 9 (4), 637-42.
- Sandi, C. (1998). The role and mechanisms of action of glucocorticoid involvement in memory storage. *Neural Plasticity*, 6 (3), 41-52.
- Sandin, B, Chorot, P, Santed, M y Valiente, R. (2004). Differences in negative life events between patients with anxiety disorders, depression and hypochondriasis. *Anxiety Stress and Coping*, 17 (1), 37-47.

- Santarelli, L, Saxe, M, Gross, C, Surget, A, Battaglia, F, Dulawa, S, Weisstaub, N, Lee, J, Duman, R, Arancio, O, Belzung, C y Hen, R. (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*, *301* (5634), 805-09.
- Sapolsky, R, Krey, L y McEwen, B. (1985). Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: Implications for aging. *Journal of Neuroscience*, *5* (5), 1222-27.
- Sapolsky, R, Krey, R y McEwen, B. (1986). The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocr. Rev.*, *7*, 284-301.
- Sapolsky, R, Uno, H, Rebert, C y Finch, C. (1990). Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *Journal of Neuroscience*, *10* (9), 2897-902.
- Sapolsky, R. (1992). Neuroendocrinology of the stress-response. In Becker, J., Breedlove, M. y Crews, D. (Eds.), *Behavioral endocrinology* (pp. 287-324). Cambridge, Massachusetts: MIT.
- Sapolsky, R, Romero, M y Munck, A. (2000). How do glucocorticoids influence the stress response? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endo Rev*, *21*, 55-89.
- Sapolsky, R. (2002). Endocrinology of the stress-response. In Becker, J., Breedlove, S., Crews, D. y McCarthy, M. (Eds.), *Behavioral Endocrinology* (2 ed., pp. 409-49). Cambridge: Massachusetts Institute of Technology.
- Sarrieau, A, Chaouloff, F, Lemaire, V y Mormede. (1998). Comparison of the neuroendocrine responses to stress in outbred, inbred and F1 hybrid rats. *Life Sciences*, *63* (2), 87-96.
- Saudou, F, Ait Amara, D, LeMeur, M, Ramboz, S, Segu, L, Buhot, M y col., y. (1994). Enhanced aggressive behavior in mice lacking the 5HT1B receptor. *Science*, *265*, 1875-78.
- Schatzberg, A, Rothschild, A, Langlais, P, Bird, E y Cole, J. (1985). A corticosteroid/dopamine hypothesis for psychotic depression and related states. *Journal Of Psychiatric Research*, *19* (1), 57-64.
- Schedlowsky, M y Tewes, U. (1999). Psychoneuroimmunology: An interdisciplinary introduction. *Nueva York: kluwer Academic/Plenum Publishers*.

- Schildkraut, J. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *The American Journal of Psychiatry*, *122*, 509-22.
- Schildkraut, J y Kety, S. (1967). Biogenic amines and emotion. *Science*, *156* (771), 21-37.
- Schultz, W. (1997). Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. *Current Opinon in Neurobiology*, *7*, 191-97.
- Selye, H. (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, *138* (32).
- Selye, H. (1976). *The Stress of Life*. McGraw-Hill. New York.
- Sgoifo, A, De Boer, S, Haller, J y Koolhaas, J. (1996). Individual differences in plasma catecholamine and corticosterone stress responses of wild-type rats: Relationship with aggression. *Physiology and Behavior*, *60*, 1403-7.
- Shalev, A, Bonne, O y Eth, S. (1996). Treatment of posttraumatic stress disorder: A review,. *Psychosomatic Medicine*, *58*, 165-68.
- Shanks, N y Anisman, H. (1988). Stressor-provoked behavioral changes in six strains of mice. *Behavioral Neuroscience*, *102* (6), 894-905.
- Shanks, N, Griffiths, J, Zalzman, S, Zacharko, R y Anisman, H. (1990). Mouse strain differences in plasma corticosterone following uncontrollable footshock. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *36* (3), 515-19.
- Sheridan, J. (2003). The HPA Axis, SNS, and Immunity: A Commentary. *Brain, Behavior, and Immunity*, *17* (1), 17.
- Shirayama, Y, Chen, A, Nakagawa, S, Russell, D y Duman, R. (2002). Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *Journal of Neuroscience*, *22* (8), 3251-61.
- Sikiric, P, Separovic, J, Buljat, G, Anic, T, Stancic-Rokotov, D, Mikus, D, Marovic, A, Prkacin, I, Duplancic, B, Zoricic, I, Aralica, G, Lovric-Bencic, M, Ziger, T, Perovic, D, Rotkvic, I, Mise, S, Hanzevacki, M, Hahn, V, Seiwert, S, Turkovic, B, Grabarevic, Z, Petek, M y Rucman, R. (2000). The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants. *Journal of Physiology-Paris*, *94* (2), 99-104.
- Silberman, D, Wald, M y Genaro, A. (2002). Effects of chronic mild stress on lymphocyte response. Participation of serum thyroid hormones and corticosterone. *International Immunopharmacology*, *2*, 487-97.

- Silberman, D, Wald, M y Genaro, A. (2003). Acute and chronic stress exert opposing effects on antibody responses associated with changes in stress hormone regulation of T-lymphocyte reactivity. *Journal of Neuroimmunology*, 144 (1-2), 53-60.
- Silberman, D, Ayelli-Edgar, V, Zorrilla-Zubilete, M, Zieher, L y Genaro, A. (2004). Impaired T-cell dependent humoral response and its relationship with lymphocyte sensitivity to stress hormones in a chronic mild stress model of depression. *Brain, Behavior, and Immunity*, 18, 81-90.
- Silva, R y Brandao, M. (2000). Acute and chronic effects of gepirone and fluoxetine in rats tested in the elevated plus-maze: an ethological analysis. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65 (2), 209-16.
- Sinha, R. (2001). How does stress increase risk of drug abuse and relapse? *Psychopharmacologia*, 158 (4), 343-59.
- Skutela, T, Montkowski, A, Stohr, T, Probst, J, Landgraf, R, Holsboer, F y Jirikowski, G. (1994). Corticotropin-releasing hormone (CRH) antisense oligodeoxynucleotide treatment attenuates social defeat-induced anxiety in rats. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 14, 579-88.
- Sluzewska, A, Rybakowski, J, Laciak, M, Maekiewicz, A, Sobieska, M y Wiktorowicz, K. (1995). Interleukin-6 serum levels in depressed patients before and after treatment with fluoxetine. *Annual Academic Science*, 762, 474-76.
- Sluzewska, A y Szczawinska, K. (1996). The effect of lithium potentiation of antidepressants in chronic mild stress model of depression in rats. *European Neuropsychopharmacology*, 6 (3), 56.
- Smelik, P. (1987). Adaptation and brain function. *Progress In Brain Research*, 72, 3-9.
- Solberg, L, Horton, T y Turek, F. (1999). Circadian rhythms and depression: effects of exercise in an animal model. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 276 (1), R152-R61.
- Stahl, S. (1998). Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors: Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *Journal of Affective Disorders*, 51 (3), 215-35.
- Stark, J, Avitsur, R, Padgett, D, Campbell, K, Beck, F y Sheridan, JF. (2001). Social stress induces glucocorticoid resistance in macrophages. *American Journal of Physiology*, 280, R1799-R805.

- Stefanski, V y Ben-Eliyahu, S. (1996). Social confrontation and tumor metastasis in rats: defeat and Beta-adrenergic mechanisms. *Physiology and Behavior*, *60*, 277-82.
- Stefanski, V. (1998). Social stress in loser rats: opposite immunological effects in submissive and subdominant males. *Physiology and Behavior*, *63*, 605-13.
- Stefanski, V y Engler, H. (1998). Effects of acute Chronic Social Stress on blood cellular immunity in rats. *Physiology & Behavior*, *64* (5), 733-41.
- Stefanski, V y Engler, H. (1999). Social stress, dominance and blood cellular immunity. *Journal of Neuroimmunology*, *94*, 144-52.
- Stefanski, V. (2000). Social stress in laboratory rats: hormonal responses and immune cell distribution. *Psychoneuroendocrinology*, *25*, 389-406.
- Stein, M, Keller, S y Schleifer, S. (1985). Stress and immunomodulation: the role of depression and neuroendocrine function. *The Journal of Immunology*, *135*, 827-33.
- Stenfors, C y Ross, S. (2002). Evidence for involvement of 5-hydroxytryptamine1B autoreceptors in the enhancement of serotonin turnover in the mouse brain following repeated treatment with fluoxetine. *Life Sciences*, *71*, 2867-80.
- Sterling, P y Eyer, J. (1988). Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. In: Fisher, S; Reason, J, Editors. *Handbook of Life Stress, Cognition and Health*, Wiley, New York (1988).pp., 629-49.
- Stockmeier, C. (2003). Involvement of serotonin in depression: evidence from postmortem and imaging studies of serotonin receptors and the serotonin transporter. *Journal of Psychiatry Research*, *37* (5), 357-73.
- Strekalova, T, Spanagel, R, Bartsch, D, Henn, F y Gass, P. (2004). Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology*, *29* (11), 2007-17.
- Subhan, F, Deslandes, P, Pache, D y Sewell, R. (2000). Do antidepressants affect motivation in conditioned place preference? *European Journal of Pharmacology*, *408* (3), 257-63.
- Tafet, G y Bernardini, R. (2003). Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. *Progress in Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *27*, 893-903.

- Talalalenko, A, Gordieko, D, Pankrat'ev, D, Zinkovich, I y Krivobok, G. (2001). The role of neurochemical mechanisms of ventromedial hypothalamus in various models of anxiety in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 131(1), 38-40.
- Tannenbaum, B, Tannenbaum, G, Sudom, K y Anisman, H. (2002). Neurochemical and behavioral alterations elicited by a chronic intermittent stressor regimen: implications for allostatic load. *Brain Research*, 953 (1-2), 82-92.
- Tannenbaum, B y Anisman, H. (2003). Impact of chronic intermittent challenges in stressor-susceptible and resilient strains of mice. *Biological Psychiatry*, 53 (4), 292-303.
- Thakore, J y Dinan, T. (1995). Effect of fluoxetine on dexamethasone-induced growth hormone release in depression: a double-blind, placebo-controlled study. *American Journal of Psychiatry*, 152, 616-18.
- Thierry, A, Pirot, S, Gioanni, Y y Glowinski, J. (1998). Dopamine function in the prefrontal cortex. *Advances in Pharmacology*, 42, 717-20.
- Thomas, B, Pandey, M, Ramdas, K y Nair, M. (2002). Psychological distress in cancer patients: Hypothesis of a distress model. *European Journal of Cancer Prevention*, 11 (2), 179-85.
- Tidey, J y Miczek, K. (1996). Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study. *Brain Research*, 721, 140-49.
- Tidey, J y Mickzek, K. (1997). Acquisition of cocaine self-administration after social stress: role of accumbens dopamine. *Psychopharmacology*, 130 (3), 203-12.
- To, C, Anheuer, Z y Bagdy, G. (1999). Effects of acute and chronic fluoxetine treatment of CRH-induced anxiety. *Neuroreport*, 10 (3), 553-55.
- Tornatzky, W y Mickzek, K. (1994). Behavioral and autonomic responses to intermittent social stress: Differential protection by clonidine and metoprolol. *Psychopharmacology*, 116, 346-56.
- Torpy, D y Chrousos, G. (1996). The three-way interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal and gonadal axes and immune system. *Ballieres Clinical Rheumatology*, 10 (2).
- Tuchscherer, M, Puppe, B, Tuchscherer, A y Kanitz, E. (1998). Effects of social status after mixing on immune, metabolic, and endocrine responses in pigs. *Physiology and Behavior*, 64, 353-60.

- Tuma, J, Strubbe, J, Mocaëer, E y Koolhaas, J. (2005). Anxiolytic-like action of the antidepressant agomelatine (S 20098) after a social defeat requires the integrity of the SCN. *European Neuropsychopharmacology*, 15 (5), 545-55.
- Turner-Cobb, J, Sephton, S y Spiege, D. (2001). Psychosocial effects on immune function and disease progression in cancer: human studies. In In: R. Ader, D. L. F. a. N. C., Editors (Ed.), *Psychoneuroimmunology* (pp. 565-82). San Diego, CA: Academic Press.
- Ursin, H y Olf, M. (1993a). Psychobiology of coping and defence strategies. *Neuropsychobiology*, 28 (1-2), 66-71.
- Ursin, H y Olf, M. (1993b). The stress response, En S. C. Stanford y P. Salmon (Eds). Stress: from synapse to syndrome. San Diego: Academic Press.
- Valdman, A y Poshivalov, V. (1980). Some effects of modelling the behavior pathology in animal. *Experimental and Clinical Psychopharmacology, Moskow: Nauka*, 3-18.
- Valverde, O, Smadja, C, Roques, B y Maldonado, R. (1997). The attenuation of morphine-conditioned place preference following chronic mild stress is reversed by a CCKB receptor antagonist. *Psychopharmacology*, 131, 79-85.
- Van de Kar, L, Raap, D, Battaglia, G, Muma, N, Garcia, F y DonCarlos, L. (2002). Treatment of cycling female rats with fluoxetine induces desensitization of hypothalamic 5-HT_{1A} receptors with no change in 5-HT_{2A} receptors. *Neuropharmacology*, 43 (1), 45-54.
- van der Hart, M, Czeh, B, de Biurrun, G, Michaelis, T, Watanabe, T, Natt, O, Frahm, J y Fuchs, E. (2002). Substance P receptor antagonist and clomipramine prevent stress-induced alterations in cerebral metabolites, cytogenesis in the dentate gyrus and hippocampal volume. *Molecular Psychiatry*, 7 (9), 933-41.
- Van der Poll, T, Coyle, S, Barbosa, K, Braxton, C y Lowry, S. (1996). Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin 10 production during endotoxemia. *Journal of Clinical Investigation*, 97, 713-19.
- Van Dijken, H, Mos, J, Van Der Haider, J y Tilders, F. (1992). Characterization of stress-induced long-term behavioral changes in rats: evidence in favor of anxiety. *Physiology & Behavior*, 52, 945-51.
- Van Dijken, H, De Goeij, D, Sutanto, W, Mos, J, De Kloet, E y Tilders, F. (1993). Short inescapable stress produces long-lasting changes in the brain-pituitary-adrenal axis of adult male rats. *Neuroendocrinology*, 58, 57-64.

- van Erp, A, Kruk, M, Meelis, W y Willekens-Bramer, D. (1994). Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: Handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening. *Behavioural Brain Research*, 65, 47-55.
- van Praag, H. (1969). Depression and the metabolism of 5-hydroxytryptamine. *Dutch Med J*, 113, 2245-47.
- van Praag, H, Korf, J y Puite, J. (1970). 5-Hydroxyindoleacetic acid levels in the cerebrospinal fluid of depressive patients treated with probenecid. *Nature*, 225 (5239), 1259-60.
- van Praag, H y Korf, J. (1971). Endogenous depressions with and without disturbances in the 5-hydroxytryptamine metabolism: a biochemical classification? *Psychopharmacology*, 19, 148-52.
- van Praag, H. (2004). Can stress cause depression? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28 (5), 891-907.
- Vaswani, M, Linda, F y Ramesh, S. (2003). Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27 (1), 85-102.
- Veenema, A, Meijer, O, de Kloet, E y Koolhaas, J. (2003a). Genetic selection for coping style predicts stressor susceptibility. *Journal Of Neuroendocrinology*, 15 (3), 256-67.
- Veenema, A, Meijer, O, de Kloet, E, Koolhaas, J y Bohus, B. (2003b). Differences in basal and stress-induced HPA regulation of wild house mice selected for high and low aggression. *Hormones and Behavior*, 43 (1), 197-204.
- Veenema, A, Koolhaas, J y De Kloet, E. (2004). Basal and stress-induced differences in HPA axis, 5-HT responsiveness, and hippocampal cell proliferation in two mouse lines. *Annals of New York Academic Sciences*, 1018, 255-65.
- Vegas, O, Fano, E, Brain, P, Alonso, A y Azpiroz, A. (2006). Social stress, coping strategies and tumor development in male mice: Behavioral, neuroendocrine and immunological implications. *Psychoneuroendocrinology*, 31 (1), 69-79.
- Vermetten, E y Bremner, J. (2002). Circuits and System in Stress. I. Preclinical Studies. *Depression and Anxiety*, 15, 126-47.

- Vettore, M, Leao, A, da Silva, A, Quintanilha, R y Lamarca, G. (2003). The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 30 (5), 394-402.
- Wadee, A, Kuschke, R, Kometz, S y Berk, M. (2001). Personality factors, stress and immunity. *Stress and Helath*, 17 (1), 25-40.
- Watanabe, Y, McKittrick, C, Blanchard, D, Blanchard, R, McEwen, B y Sakai, R. (1995). Effects of chronic social stress on tyroxine hydroxylase mRNA and protein levels. *Molecular Brain Research*, 32, 176-80.
- Webster, E, Tracey, D, Jutila, M, Wolfe, S y De Souza, E. (1990). Corticotropin-releasing factor receptors in mouse spleen: identification of receptor-bearing cells as resident macrophages. *Endocrinology*, 127 (1), 440-52.
- Webster, E, Elenkov, I y Chrousos, G. (1997). Corticotropin-releasing hormone acts on immune cells to elicit pro-inflammatory responses. *Molecular Psychiatry*, 2 (5), 345-46.
- Weigent, D y Blalock, J. (1990). Immunoreactive growth hormone releasing hormone production by rat leukocytes. *Journal of Neuroimmunology*, 29, 1-13.
- Weigent, D, Carr, D y Blalock, J. (1990). Bidirectional communication between the neuroendocrine and immune systems. Common hormones and hormone receptors. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 579, 17-27.
- Wilckens, T y De Rijk, R. (1997). Glucocorticoids and immune function: Unknow dimensions and the new frontiers. *Immunology Today*, 18, 418-24.
- Willner, P. (1983). Dopamine and depression: a review of recent evidence. II. Theoretical approaches. *Brain Research*, 287 (3), 225-36.
- Willner, P, Towell, A, Sampson, D, Sophokleous, S y Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic mild stress and its restoration by tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 93, 358-64.
- Willner, P. (1989). Sensitization to the actions of antidepressant drug. In: *Emmett-Oglesby, M V; Goudie, A J (Eds.) Psycho-active Drugs: Tolerance and Sensitization. Humana, Clifton NJ*, 407-59.
- Willner, P, Golembiowska, K, Klimek, V y Muscat, R. (1991). Changes in Mesolimbic Dopamine May Explain Stress-Induced Anhedonia. *Psychobiology*, 19 (1), 79-84.

- Willner, P, Muscat, R y Papp, M. (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic model of depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16, 525-34.
- Willner, P, Moreau, J, Kurre Nielsen, C, Papp, M y Sluzwska, A. (1996). Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress is not secondary to loss of body weight. *Physiology & Behavior*, 60 (1), 129-34.
- Willner, P. (1997a). The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action. *International Clinical Psychopharmacology*, 12 (3), s7-s14.
- Willner, P. (1997b). The chronic mild stress procedure as an animal model of depression: valid, reasonably reliable, and useful. *Psychopharmacology*, 134 (4), 371-77.
- Willner, P. (2002). Dopamine and depression. In: Di Chiara, G (Ed.), *Handbook of Experimental Pharmacology: Dopamine in the CNS*. Springer, Berlin, 387-416.
- Willner, P, Hale, A y Argyropoulos, S. (2005). Dopaminergic mechanism of antidepressant action in depressed patients. *Journal of Affective Disorders*, 86, 37-45.
- Wise, R. (1982). Neuroleptics and operant behavior: the anhedonia hypothesis. *Behav Brain Sci*, 5, 39-87.
- Wong, D, Bymaster, F y Engleman, E. (1995). Prozac (fluoxetine, Lilly 11040), the first selective serotonin uptake inhibitor and an antidepressant drug: Twenty years since its first publication. *Life Sciences*, 57, 411-41.
- Wong, M, Kling, M, Munson, P, Listwak, S, Licinio, J, Prolo, P, Karp, B, McCutcheon, I, Geraciotti, T, Jr, DeBellis, M, Rice, K, Goldstein, D, Veldhuis, J, Chrousos, G, Oldfield, E, McCann, S y Gold, P. (2000). Pronounced and sustained central hypernoradrenergic function in major depression with melancholic features: relation to hypercortisolism and corticotropin-releasing hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America U S A*, 97 (1), 325-30.
- Worthman, C. (1999). Epidemiology of human development. *Hormones, Health, and Behavior*. Edited by Panter-Brick, C and Worthman, C M. Cambridge University Press, 1999.
- Wrona, D, Jurkowski, M, Luszawska, D, Tokarski, J y Trojnar, W. (2003). The effects of lateral hypothalamic lesions on peripheral blood natural killer cell cytotoxicity in rats hyper- and hyporesponsive to novelty. *Brain, Behavior, and Immunity*, 17 (6), 453-61.

- Wrona, D. (2006). Neural-immune interactions: An integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems. *Journal of Neuroimmunology*, 172 (1-2), 38-58.
- Wu, J, Kramer, G, Kram, M, Steciuk, M, Crawford, I y Petty, F. (1999). Serotonin and learned helplessness: a regional study of 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} receptors and the serotonin transport site in rat brain. *Journal of Psychiatry Research*, 33, 17-22.
- Xia, Z, DePierre, J y Nassberger, L. (1996). Tricyclic antidepressants inhibit IL-6, IL-1 beta and TNF-alpha release in human blood monocytes and IL-2 and interferon-gamma in T cells. *Immunopharmacology*, 34 (1), 27-37.
- Yada, T, Misumi, I, Muto, K, Azuma, T y Schreck, C. (2004). Effects of prolactin and growth hormone on proliferation and survival of cultured trout leucocytes. *General and Comparative Endocrinology*, 136 (2), 298-306.
- Yates, M, Leake, A, Candy, J, Fairbairn, A, McKeith, I y Ferrier, I. (1990). 5HT₂ receptor changes in major depression. *Biological Psychiatry*, 27, 489-96.
- Yavich, L y Tiihonen, J. (2000). Ethanol modulates evoked dopamine release in mouse nucleus accumbens: dependence on social stress and dose. *European Journal of Pharmacology*, 401 (3), 365-73.
- Yehuda, R. (2002). Current status of cortisol findings in post-traumatic stress disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, 25, 341-48.
- Yosimura, H y Kimura, N. (1991). Ethopharmacology of copulatory disorder induced by chronic social conflict in male mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 15, 497-500.
- Young, E y Akil, H. (1985). Changes in releasability of ACTH and beta-endorphin with chronic stress. *Neuropeptides*, 5 (4-6), 545-8.
- Zelena, D, Haller, J, Halász, J y Makara, G. (1999). Social stress of variable intensity: Physiological and behavioral consequences. *Brain Research Bulletin*, 3, 297-302.
- Zhang, Y, Raap, D, Garcia, F, Serres, F, Ma, Q, Battaglia, G y Van de Kar, L. (2000). Long-term fluoxetine produces behavioral anxiolytic effects without inhibiting neuroendocrine responses to conditioned stress in rats. *Brain Research*, 855, 58-66.
- Zheng, H, Liu, Y, Li, W, Yang, B, Chen, D, Wang, X, Jiang, Z, Wang, H, Wang, Z, Cornelisson, G y Halberg, F. (2006). Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. *Behavioural Brain Research*, 168 (1), 47-55.

Bibliografía

Zisook, S, Shuchter, S, Irwin, M, Darko, D, Sledge, P y Resovsky, K. (1994). Bereavement, depression, and immune function. *Psychiatry Research*, 52 (1), 1-10.

