



ORIGINAL

# Diferencias intra-especie en respuesta al estrés: Hacia enfoques traslacionales<sup>1</sup>

## *Intra-specie differences in response to stress: Looking for translational view*

Paulina Torres-Carrilloa, Mariana Vergel-Munguíaa, Diana B. Paz-Trejoa, b, c, Lenin Ochoa-de la Paz d, Oscar Zamora-Arévalo, & Hugo Sánchez Castillo<sup>2</sup> a, d, e

a Laboratorio de Neuropsicofarmacología y Estimación Temporal, Facultad de Psicología, UNAM, Ciudad de México, México

b Sistema de Universidad Abierta, Facultad de Psicología, UNAM, Ciudad de México, México

c Sociedad Iberoamericana de Neurociencia Aplicada, Ciudad de México, México

d Unidad de Investigación APEC-UNAM, Facultad de Medicina, UNAM, Ciudad de México, México

e Departamento de Psicobiología y Neurociencias, Ciudad de México, México

Recibido el 8 de agosto de 2017; aceptado el 18 de diciembre de 2017

### Resumen

El estrés produce la sobreactivación del eje HPA y sistema neuroendocrino. Se ha mostrado que existe daño en estructuras relacionadas con el procesamiento emocional (amígdala) aprendizaje (hipocampo), toma de decisiones y prospección (corteza prefrontal). Sin embargo, se generalizan los efectos del estrés sin ponderar el tipo de estrés (crónico o agudo), duración, especie, etc. Esto permite que hallazgos se contrapongan a nivel cortical, neuroquímico, hormonal y conductual. El objetivo fue evaluar los efectos del estrés crónico impredecible (ECI) en diferentes cepas de ratas y sus efectos inmediatos o a largo plazo. Se utilizaron ratas macho Wistar, Wistar Kyoto y SHR en condiciones estándar de laboratorio. Se aplicó una batería de ECI y una batería de evaluación conductual para evaluar efectos previos, agudos y crónicos. La cepa Wistar Kyoto muestra deficiencias previas a la exposición. La cepa SHR muestra mayor movilidad y sesgos atencionales, lo que produce un efecto que perdura a largo plazo. La cepa Wistar muestra una gran capacidad de adaptación ya que aunque se observaron deficiencias inmediatamente después de la exposición al estrés, éstas se recuperan a largo plazo. Se infiere que las precondiciones de los sujetos podrían funcionar como biomarcadores y poder prevenir padecimientos relacionados al estrés.

**Palabras clave:** Estrés crónico, Wistar, Wistar Kyoto, SHR

### Abstract

Stress produces the over activation of the Hypothalamus Pituitary Adrenal axis (HPA) and the neuroendocrine system. It has been shown that it could damage structures related with the emotional processing (amygdala), learning and memory (Hippocampus), decision making and prospection (prefrontal cortex). However, the stress affects are generalized without weighting all the elements related with this conditions, for example the kind of stress stimuli (acute or chronic), duration, species, etc. This allowed that some findings it will go against each other in relation to cerebral cortex function, neurochemical, hormonal and behavioral. The main porpoise of this research was to evaluate the effects of the unpredictable chronic stress on several rat strains (Wistar, Wistar Kyoto and SHR) and its immediate effects or in long term so.

1 Proyecto financiado por DGAPA-PAPIIT 305715 y DGAPA-PAPIME 300717.

2 Correspondencia: Dr. Hugo Sánchez Castillo. Laboratorio de Neuropsicofarmacología y Estimación Temporal. Cub.

F001, 1er piso Edificio B, Facultad de Psicología, UNAM. Av. Universidad 3000, Colonia Copilco Universidad, delegación

Coyoacán, c.p. 04510. Tel. 56228222 ext. 41354, 56222230. Correo: ajuscoman@unam.mx, hugosancas@gmail.com

Wistar, Wistar Kyoto and SHR rats were used. All animals were housed in standard laboratory conditions and we follow the international guide for use and care of laboratory animals. The subjects were exposed to the Chronic Unpredictable Stress Battery (CUSB) and to evaluate the stress effects all the subjects were evaluated with a Battery of Behavioral Evaluation to find the previous, immediate or the long-term effects of CUSB exposition. The Wistar Kyoto strain showed deficits before the stress exposure. Whereas the SHR rats showed more mobility and poor attention which produces a long-term effect. The Wistar strain show a high adaptation to the adverse conditions because until the animals showed strong effects immediately after the stress exposure they showed a good recovery in the long term. In conclusion we can asseverate that the preconditions in every strain plays a major role in the stress response and that preconditions it could be used as biomarkers and in that way infer if the subjects are more susceptible to suffer high stress or some other related disease.

**Keywords:** Chronic stress, Wistar, Wistar Kyoto, SHR

El estrés tiene efectos tanto fisiológicos como conductuales (ver Faraday, 2002). Uno de los paradigmas que más se ha utilizado es el estrés crónico impredecible (Ursano, Li, Zhang, Hough, Fullerton, Benedek, Grieger & Holloway, 2008). De forma general, este paradigma tiene la particularidad de utilizar varios estresores que son presentados de forma aleatoria durante varios días cuidando no presentar el mismo estresor en días consecutivos. Además, de tener la cualidad de no permitir al sujeto tener control acerca de la predictibilidad del evento aversivo (Ursano et al., 2008).

Actualmente, uno de los desafíos a los que se enfrenta el estudio en el campo de estrés es caracterizar aquellos factores que pueden conferir vulnerabilidad o resiliencia a los efectos del estrés (Novais, Monteiro, Roque, Correia-Neves & Sousa, 2017). Entre los factores que se han propuesto son el sexo (Bangasser & Valentino, 2014), la cepa (Faraday, 2002; Paré & Kluczynski, 1997), la especie (Czéh, Simon, Schmelting, Hiemke & Fuchs, 2006; Qiong, Bing, Hai-Yan, Yan-Qing, Jin & Gen-Cheng, 2009), el tipo de estresor (Migliaro, Sandoval-Flores, Benítez-Serratos, Valencia-Flores, Orizaba-Huerta, et al., 2016), la duración de la exposición (Joëls & Baram, 2009) o el tipo de prueba para la evaluación (Stepanichev, Tishkina, Novikova, Levshina, Freiman, et al., 2016).

En estudios previos se han reportado diferentes patrones conductuales entre cepas. La cepa WKY presenta un patrón de inmovilidad y congelamiento en la prueba campo abierto, lo que se atribuye a conductas tipo depresivas y ansiosas, así como una pobre conducta motora (Braw, Malkesan, Dagan, Bercovich, Lavi-Avnon, et al., 2006; Li, Lu, Antonio, Mak, Rudd, Fan & Tew, 2007; Pardon, Gould,

Garcia, Phillips, Cook, Miller, Mason & Morilak, 2002). Por otra parte, la cepa SHR presenta mayor actividad motora (Hendley, Wessel, Atwater, Gellis, Whitehorn & Low, 1985; Hinojosa, Spricigo, Izidio, Brüske, Lopes & Ramos, 2006; Li, et al., 2007; Pardon, et al., 2002).

Clements et al. (2006; 2008; 2010) encontraron que la cepa SHR presenta déficits en tareas de memoria en paradigmas win-shift, preferencia condicionada (CCP, por sus siglas en inglés: conditioned cue preference). Sin embargo, no lo atribuyen a problemas de memoria per se sino a déficits en la inhibición de respuesta. Los resultados de los estudios realizados por Grauer et al. (1993) sugieren que la cepa WKY presentan déficits en memoria de trabajo al tener mayores latencias en la tarea de laberinto de Morris. Por otra parte, la cepa SHR presenta mayores latencias en comparación con la cepa WKY en la misma tarea (Li et al., 2007).

De igual manera se han encontrado diferencias en los niveles de neurotransmisores como dopamina, norepinefrina y serotonina en regiones mesolímbicas cuando se compara la cepa WKY con otras cepas, incluida la cepa Wistar (Jiao, Paré & Tejani-Butt, 2003; Scholl, Renner, Forster & Tejani-Butt, 2010). Dichas diferencias podrían estar relacionadas con las conductas tipo depresivas observadas en la cepa WKY (Jiao, et al., 2003; Scholl, Renner, Forster & Tejani-Butt, 2010).

En condiciones de estrés en la cepa WKY se ha incremento en conductas tipo ansiosas, al tener menos número de entradas en los brazos abiertos y permanecer menos tiempo en ellos en la tarea de laberinto elevado en cruz (Courvosier, Moisan, Sarrieau, Hendley & Mormède; 1996; Paré, 1992). Mientras que la cepa SHR presenta mayor

número de entradas a los brazos abiertos y permanecer más tiempo en ellos (Courvosier et al., 1996; Paré, 1992).

Clements et al. (2010) reportaron que durante la prueba de nado forzado las ratas de la cepa WKY se mantienen más tiempo inmóviles en comparación de la cepa Sprague-Dawley (SD) y la cepa Wistar (Paré et al., 1997; Will, Aird & Redei, 2003), mientras que las SHR pasan más tiempo inmóviles que la cepa SD empero menos que la cepa WKY (Armario, Gavaldà & Martí, 1995; Martí & Armario, 1996; Clements & Wainwright, 2010). Con respecto a la presencia del gen de expresión temprana (Zif268), Clements et al. (2010) encontraron diferencias en la corteza prefrontal, donde la cepa SHR tuvo mayor expresión, así como en el estriado dorsal e hipocampo, mientras que observaron una menor expresión en el núcleo accumbens y en la amígdala basolateral, en comparación con las otras cepas y con el grupo SHR no estresado. Esos resultados sugieren que la cepa SHR tiene alteraciones en la respuesta de estrés comparadas con la cepa control (Clements et al., 2010).

Resultados de estudios previos demuestran que no sólo se presentan diferencias conductuales sino también neuroquímicas frente a un mismo estresor al comparar la cepa WKY con la cepa Wistar (de la Garza & Mahoney, 2004; O'Mahony, Clarke, Gibney, Dinan & Cryan, 2011).

En la comparación entre los niveles de corticosterona después del estresor nado forzado se encontró que después de la exposición al estresor la cepa WKY tuvo mayores niveles en comparación con la cepa SHR, sin embargo, no hubo diferencias en las mediciones basales entre las cepas (Armario et al., 1995; Rittenhouse, López-Rubalcava, Stanwood & Lucki, 2002). Otro estudio en el que se expuso a estrés crónico (aislamiento social por 7 días) se observó que la cepa WKY tuvo mayores niveles de corticosterona que las ratas de la cepa Wistar (Malkesman, Maayan, Weizman & Weller, 2006).

Por toda la evidencia antes citada el objetivo del presente proyecto fue evaluar los efectos del estrés crónico impredecible en diferentes cepas de ratas. Esto nos permitirá proporcionar evidencia empírica de que el estrés no tiene efectos similares aún dentro de una misma especie, validando la necesidad de modelos más cercanos a la sintomatología del primate humano, donde se hace hincapié en la búsqueda de biomarcadores como factores importantes a considerar.

## Método

### Sujetos

Se utilizaron ratas machos de las cepas Wistar ( $n=10$ ), Wistar Kyoto (WKY) ( $n=8$ ) y Ratas Espontáneamente Hipertensivas (SHR, por sus siglas en inglés) ( $n=10$ ) con un peso de 200-340 gr. y aproximadamente 12 semanas de edad al inicio del experimento. Las ratas se mantuvieron alojadas en cajas comunales (4-5 sujetos de la misma cepa) bajo un ciclo de luz-obscuridad invertido de 12-12, con temperatura constante de  $22\pm 2^\circ\text{C}$ . Alimento restringido a una hora al día y agua ad libitum durante todo el experimento.

### Procedimiento

Inicialmente los sujetos tuvieron un periodo de aclimatación al bioterio, cuarto de evaluación conductual y manipulación durante los primeros 5 días. Posteriormente, se inició la evaluación conductual (Laberinto en Y, Nado Forzado, Reconocimiento de Objetos y Campo Abierto). Una vez concluida la evaluación, los sujetos fueron expuestos a la Batería de Estrés Crónico Impredecible durante 10 días. Veinticuatro horas después de la exposición a estrés se evaluaron conductualmente para observar los efectos inmediatos (corto plazo) del estrés. La tercera evaluación para observar los efectos a largo plazo fue 90 días después de finalizada la exposición a estrés. El orden de las tareas fue contrabalanceado inter e intragrupos en cada una de las tres evaluaciones conductuales para evitar un efecto por el orden de las pruebas. Las tareas conductuales fueron grabadas con una cámara web y una laptop para su posterior análisis.

### Instrumentos

Batería de Estrés Crónico Impredecible (CUSB, por sus siglas en inglés). La batería desarrollada en la Facultad de Psicología, UNAM (Rosemberg-García, Torres-Carrillo, Ruiz-García, Paz-Trejo & Sánchez-Castillo, 2013; Ruiz-García, Torres-Carrillo, Rosemberg-García, Paz-Trejo & Sánchez-Castillo, 2013; Sánchez-Castillo, Torres-Carrillo, Rojas-Lita, Mendoza-Rosales, Migliaro, Paz-Trejo, Solís & Hong, 2015) y consiste en la presentación aleatoria de 5 distintos estresores a lo largo de 10 días consecutivos con el fin de evitar la predicción del orden de presentación y, por consiguiente, no generar habituación en los sujetos experimentales (ver Tabla 1).

**Tabla 1. Batería de Estrés Crónico Impredecible (CUSB)**

| Día | Estresor                                                                |
|-----|-------------------------------------------------------------------------|
| 1   | Restricción de movimiento 20 min (9:00h; 14:00h; 19:00h).               |
| 2   | Cama mojada 3h (12:00h); Luces prendidas toda la noche 12h (20:00h).    |
| 3   | Restricción de movimiento 20 min (9:00h; 14:00h; 19:00h).               |
| 4   | Cama inclinada 45° 3h (12:00h); Cama mojada toda la noche 12h (20:00h). |
| 5   | Agua fría 16°C 5 min (13h); Luces prendidas toda la noche 12h (20:00).  |
| 6   | Cama mojada 3h (12:00h); Privación de agua toda la noche 12h (20:00h).  |
| 7   | Restricción de movimiento 20 min (9:00h; 14:00h; 19:00h).               |
| 8   | Cama inclinada 45° 3h (12:00h); Cama mojada toda la noche 12h (20:00h). |
| 9   | Agua fría 16°C 5 min (13h); Luces prendidas toda la noche 12h (20:00).  |
| 10  | Restricción de movimiento 20 min (9:00h; 14:00h; 19:00h).               |

Nota: La CUSB consta de la presentación aleatoria de distintos estresores a lo largo de 10 días (Rosemberg-García et al., 2013; Ruiz-García et al., 2013; Sánchez-Castillo et al., 2015).

**Evaluación Conductual. Laberinto en Y** (brazos desmontables de 85x11x16cm, una plataforma central conformada por un triángulo equilátero de 11cm y puertas desmontables de acrílico de 17x10cm). Esta tarea se divide en tres fases: 1) Fase de habituación y elección forzada (dos sesiones por día). En la sesión 1 se colocó al sujeto en el brazo de salida y se registró el número de entradas a cada brazo durante 5 minutos. En esta sesión se eligió el brazo que fue asociado al reforzador (cereal sabor chocolate NES-QUIK®) tomando como criterio el brazo con menor número de entradas. En la sesión 2 se realizaron diez ensayos de elección forzada en el que se restringió la entrada al brazo que no estuvo asociado al reforzador. La fase de entrenamiento consiste en 10 ensayos por día, en esta fase el acceso a ambos brazos es libre, uno de ellos asociado al reforzador y otro no. Por último, en la fase de evaluación que consiste en 10 ensayos por día, en esta fase se invirtió el brazo asociado al reforzador por el que no lo estaba en la fase de entrenamiento. El brazo de salida y su posición siempre fue el mismo durante toda la tarea. El criterio para el cambio de la fase de entrenamiento a la fase de evaluación fue cumplir con el 80% de respuestas correctas durante tres días consecutivos. Se registró la latencia, el número de errores por sesión (entradas al brazo no asociado con el reforzador) y el número de sesiones que tardaron en cumplir el criterio en cada fase. Se obtuvo un Índice de Re-Adquisición a partir de la siguiente fórmula:  $(SC1-SC2) / (SC1+SC2)$ , donde: SC1 corresponde al número de sesiones que tardaron en cumplir el criterio de la fase de entrenamiento; SC2 corresponde al número de

sesiones que tardaron en cumplir el criterio de la fase de evaluación. Las latencias y errores de la fase 2 se agruparon en bins de dos sesiones (p.ej. se sumó la latencia/número de errores de la sesión 1 y sesión 2 para obtener el bin 1). **Campo Abierto (CA)**. Esta tarea evalúa actividad motora y conductas tipo ansiosas, consistió en una sesión de 5 minutos. El sujeto se colocó en el centro de la arena de campo abierto de policarbonato (100cmx100cmx45cm). Se registró el tiempo de permanencia en el área de la periferia considerándolo como indicador de ansiedad y el número de cruces totales como indicador de actividad motora. **Reconocimiento de Objetos**. Esta tarea tiene cuatro sesiones de 5 minutos, una sesión por día. La sesión 1 es de habituación a la caja. El sujeto se colocó al sujeto en la caja permitiendo la exploración de la misma para prevenir neofobia. En la sesión 2 y 3 se colocaron dos objetos iguales (cubos de madera) ubicados de forma equidistante en esquinas opuestas de la caja y se colocó al sujeto en el centro de la caja. En la sesión 4 se cambia uno de los objetos por uno nuevo (cilindro de madera) y se le permite la exploración. En esta sesión se registró el tiempo que permanece explorando cada uno de los objetos (objeto familiar y novedoso). La exploración se considera cuando el sujeto acerca su nariz a <2cm del objeto. La posición de los objetos fue contrabalanceada en cada evaluación conductuales e intrasujetos. Se obtuvo un Índice de Discriminación a partir de la fórmula:  $(ON-OF) / (ON+OF)$ , donde: ON corresponde al tiempo que exploran el objeto novedoso y OF corresponde al tiempo que pasan explorando el objeto familiar. **Prueba de Nado Forzado (FST)**. Se colocó a los

sujetos individualmente en un cilindro de acrílico transparente (45x32cm) con agua (32cm de profundidad) a  $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Sesión 1: se coloca a los sujetos en el cilindro con agua forzándolo a nadar durante 15 minutos. Sesión de Prueba: veinticuatro horas después de la primera sesión se coloca a los sujetos en el cilindro durante 5 minutos. Se registra las siguientes conductas: a) Inmovilidad, que el animal se mantenga flotando sin luchar y haciendo solamente los movimientos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua; b) Nado, movimientos activos, es decir, animales en movimiento y el buceo alrededor del contenedor; c) Escalamiento, que las ratas hagan movimientos activos con sus patas delanteras dentro y fuera del agua, por lo general dirigida contra la pared del cilindro.

#### *Análisis Estadístico*

Se utilizó el software SigmaPlot versión 11.0 para realizar todos los análisis estadísticos. Se realizaron ANOVAS de 2 vías de medidas repetidas para cada una de las mediciones registradas en cada tarea. Todas las comparaciones post-hoc se llevaron a cabo con el test de Tukey. Los datos son presentados como la Media  $\pm$  Error Estándar.

## **Resultados**

### *Laberinto en Y*

Latencias: Los resultados del ANOVA de dos vías de medidas repetidas (cepa x evaluación) para las latencias de la Fase 1 de la prueba laberinto en Y fue estadísticamente significativa en la interacción de los factores [ $F_{4,80} = 5.470$ ,  $p=0.001$ ]. El análisis post hoc reveló que en la evaluación 1 (antes de la exposición a estrés) la cepa SHR tuvo menores latencias en comparación con las cepas Wistar y WKY ( $p<0.05$ ) (Figura 1A), y en la evaluación 3 (efectos a largo plazo de estrés) la cepa SHR tuvo mayores latencias al compararlas con la cepa WKY ( $p<0.05$ ) (Figura 1C). El desempeño de la cepa WKY mejoró al decrementar las latencias después de la exposición a estrés ( $p<0.05$ ), mientras que, el desempeño de la cepa SHR fue deteriorado ( $p<0.05$ ) (Figura 1B).

En la Fase 2 de la tarea se encontró que las latencias de la cepa Wistar disminuyeron a lo largo de las sesiones en las tres evaluaciones ( $p<0.05$ ). En el caso de la cepa SHR se observa que en la evaluación antes de la exposición a estrés tuvieron latencias que disminuyeron después de

la exposición a estrés, sin embargo, éstas incrementaron cuando se evaluaron los efectos a largo plazo ( $p<0.05$ ). Por otra parte, en la cepa WKY se observó una disminución progresiva de las latencias en las evaluaciones después de la exposición a estrés y que se mantuvieron bajas en la evaluación a largo plazo ( $p<0.05$ ).

Errores. Los resultados del ANOVA de dos vías de medidas repetidas (cepa x evaluación) para los errores de la Fase 1 de la prueba laberinto en Y no fue estadísticamente significativo la interacción de los factores [ $F_{4,80} = 2.146$ ,  $p>0.05$ ]. En el caso de la evaluación antes de la exposición a estrés (Figura 1D) la cepa Wistar presentó menor número de errores en comparación con la cepa SHR y la cepa WKY ( $p<0.05$ ). En el caso de la evaluación a corto plazo de los efectos del estrés (Figura 1E) el número de errores disminuyó en las tres cepas, sin embargo, la cepa WKY mantuvo un alto número de errores en comparación con la cepa SHR y Wistar ( $p<0.05$ ). En la evaluación de los efectos a largo plazo de la exposición a estrés (Figura 1F) la cepa WKY continuo con mayor número de errores en comparación con la cepa Wistar ( $p<0.05$ ).

Índice de Re-Adquisición. Este índice es la relación entre el número de sesiones que tardaron en completar el criterio en la fase 1 o la fase 2 de la prueba de laberinto en Y. El ANOVA de 2 vías de medidas repetidas (cepa x evaluación) no fue significativa [ $F_{4,76} = 1.726$ ,  $p>0.05$ ]. Sin embargo, para los factores cepa [ $F_{2,76} = 6.878$ ,  $p=0.004$ ] y evaluación [ $F_{2,76} = 3.227$ ,  $p=0.049$ ] si fueron estadísticamente significativas. La cepa SHR requirió de menos sesiones para aprender que el reforzador había cambiado de lugar ( $p<0.05$ ) en las evaluaciones del efecto del estrés a corto y largo plazo (Figura 2). En el caso de las comparaciones entre cepas se encontró diferencias significativas en la evaluación 2, la cepa WKY tardó más sesiones para aprender que el reforzador había cambiado de brazo vs. la cepa SHR ( $p<0.05$ ) y las mismas diferencias se encontraron en la evaluación 3 donde la cepa SHR y Wistar tardaron menos sesiones en aprender el cambio de brazo asociado a reforzador ( $p<0.05$ ) (Figura 2).

### *Campo Abierto*

Número de Cruces. El ANOVA de 2 vías de medidas repetidas (cepa x evaluación) para el número de cruces totales la interacción de los factores no fue estadísticamente significativo [ $F_{4,79} = 0.384$ ,  $p=0.819$ ] sin embargo, para el

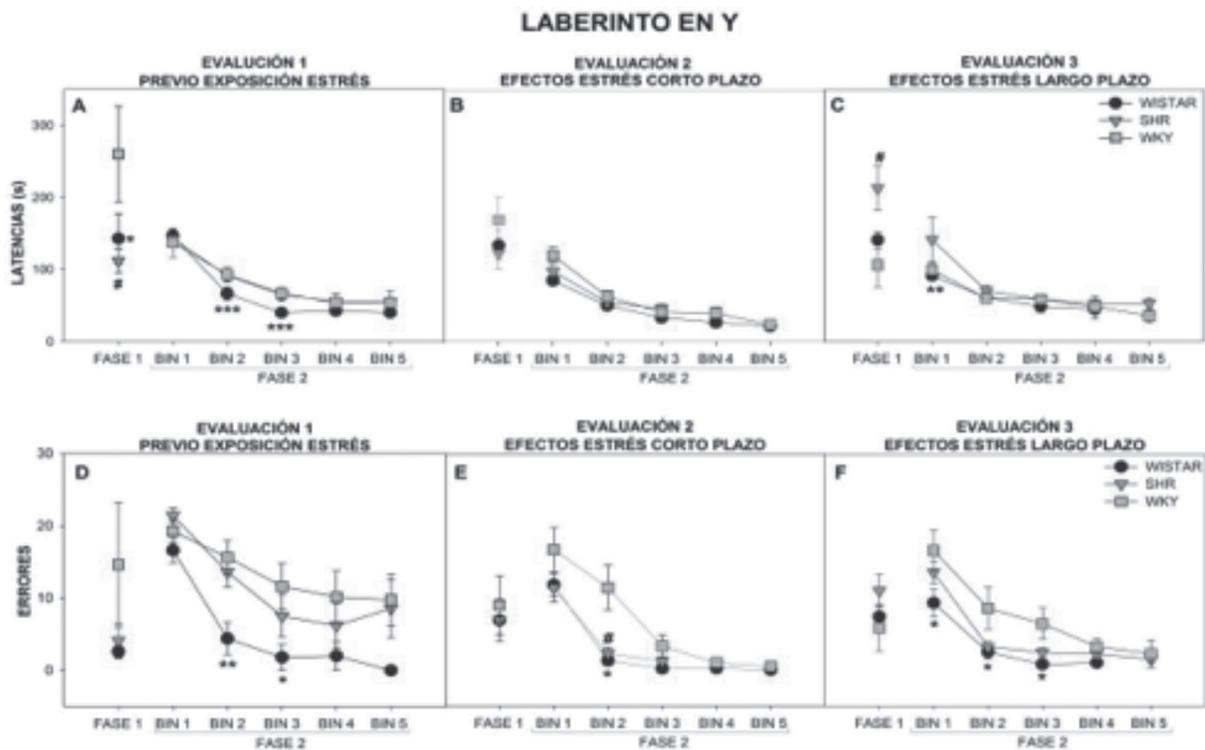


Figura 1. Laberinto en Y Latencias y Errores: Se observan latencias y errores en cada sesión. Las sesiones de la fase de evaluación se agruparon en Bins de dos sesiones. Los BIN 4 y 5 no fueron analizados. A) Número de cruces en la evaluación previa a CUSB; B) Número de cruces en la evaluación inmediatamente después de CUSB; C) Número de cruces en la evaluación después de la ventana de 90 días después de CUSB; D) Tiempo de Permanencia en la evaluación previa a CUSB; E) Tiempo de Permanencia en la evaluación inmediatamente después de CUSB; y, F) Tiempo de Permanencia en la evaluación después de la ventana de recuperación de 90 días después de CUSB. Los datos están expresados como la Media  $\pm$  Error Estándar. \*Wistar vs. WKY  $p < 0.05$ ; \*\*Wistar vs. SHR  $p < 0.05$ ; \*\*\*Wistar vs. SHR y WKY  $p < 0.05$ ; #SHR vs. WKY  $p < 0.05$ .

factor cepa [ $F_{2,79} = 9.869$ ,  $p < 0.001$ ] si lo fue. El análisis post hoc reveló que las cepas Wistar y SHR tuvieron mayor número de cruces en comparación con la cepa WKY ( $p < 0.05$  en cada una de las comparaciones) (Figura 3). Sin embargo, no hubo diferencias entre cada una de las evaluaciones.

**Tiempo de Permanencia.** El ANOVA de 2 vías de medidas repetidas (cepa x evaluación) para el tiempo de permanencia en la periferia de la prueba campo abierto fue estadísticamente significativo [ $F_{4,79} = 6.803$ ,  $p < 0.001$ ]. El análisis post hoc reveló diferencias entre las cepas. En la cepa SHR hubo diferencias entre la evaluación 1 (Figura 3A y las evaluaciones 2 y 3 ( $p < 0.05$ , para cada comparación) teniendo un mayor tiempo de permanencia en el área del centro del campo abierto antes de ser expuesta a estrés. En la comparación entre cepas en cada una de

las evaluaciones tanto la cepa Wistar como la cepa WKY permanecieron menor tiempo en el área del centro de la arena de campo abierto ( $p < 0.05$ ). En el caso de la evaluación 2 (Figura 3B) se observa una tendencia entre la cepa SHR y WKY ( $p = 0.072$ ).

**Reconocimiento de Objetos.** El ANOVA de 2 vías de medidas repetidas (cepa x evaluación) para el índice de reconocimiento fue estadísticamente significativo [ $F_{4,79} = 4.954$ ,  $p < 0.01$ ]. El análisis post hoc reveló diferencias en la cepa Wistar entre la evaluación 1 y 3 ( $p < 0.05$ ), es decir, hubo un decremento en el tiempo que pasaron explorando el objeto novedoso antes y después de ser expuestas a estrés. En la cepa SHR las diferencias se encontraron entre las evaluaciones 1 y 2 vs. 3 ( $p < 0.05$ ). En otras palabras, la ejecución de la cepa SHR fue deficiente ya que en la evaluación 1 (condición sin estrés) pasó más tiempo

### LABERINTO EN Y

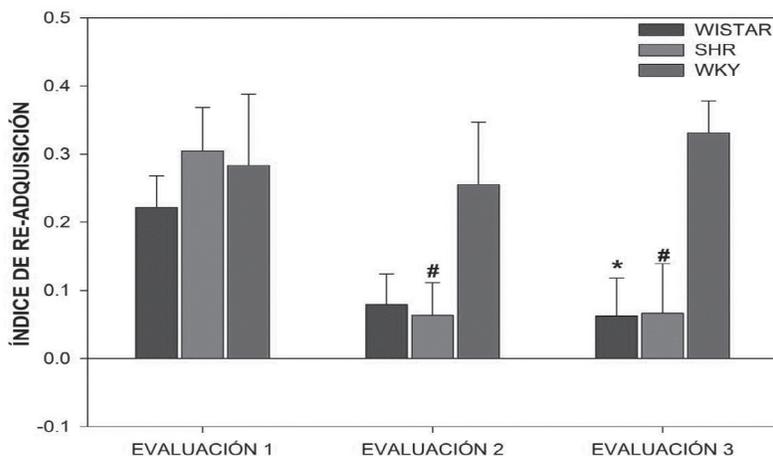


Figura 2. Laberinto en Y Índice de Re-Adquisición. Los datos están expresados en Media  $\pm$  Error Estándar. \*Wistar vs. WKY  $p < 0.05$ ; \*\*Wistar vs. SHR  $p < 0.05$ ; \*\*\*Wistar vs. SHR y WKY  $p < 0.05$ ; #SHR vs. WKY  $p < 0.05$ .

### CAMPO ABIERTO

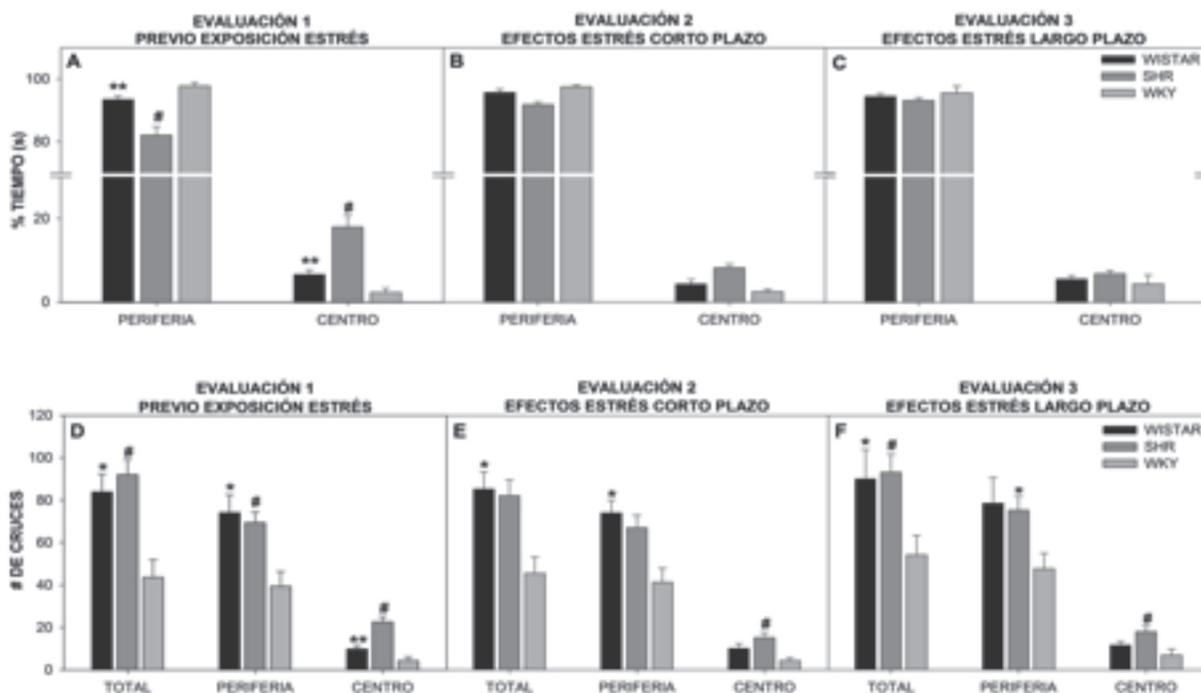


Figura 3. Campo Abierto: Porcentajes del tiempo que cada cepa permaneció en el área de la periferia o centro. A) Tiempo de Permanencia en la evaluación previa a la exposición a CUSB; B) Tiempo de Permanencia en la evaluación inmediatamente después de ser expuesto a CUSB; y, C) Tiempo de Permanencia después de la ventana de 90 días después de la exposición a CUSB. Los datos están expresados como la Media  $\pm$  Error Estándar. \*Wistar vs. WKY  $p < 0.05$ ; \*\*Wistar vs. SHR  $p < 0.05$ ; \*\*\*Wistar vs. SHR y WKY  $p < 0.05$ ; #SHR vs. WKY  $p < 0.05$ . Número de cruces previo, inmediatamente después de la exposición a CUSB y después de la ventana de 90 días posterior a la exposición a CUSB. Los datos están expresados como la Media  $\pm$  Error Estándar. \*Wistar vs. WKY  $p < 0.05$ ; \*\*Wistar vs. SHR  $p < 0.05$ ; \*\*\*Wistar vs. SHR y WKY  $p < 0.05$ ; #SHR vs. WKY  $p < 0.05$ .

explorando el objeto familiar en comparación con las otras cepas. El tiempo de exploración del objeto familiar decrementó después de estar expuesta a estrés en la evaluación 2. Además, la cepa SHR tuvo mejor ejecución en la tarea al explorar el objeto novedoso en la evaluación 3 (efectos a largo plazo del estrés). Por otra parte, el análisis post hoc de Tukey reveló diferencias significativas en la evaluación 1 la cepa Wistar y WKY pasaron más tiempo

explorando el objeto novedoso en comparación con la cepa SHR ( $p < 0.05$ ). Respecto a la evaluación 2 la cepa SHR pasó menos tiempo explorando el objeto novedoso vs. la cepa Wistar ( $p < 0.05$ ), adicionalmente, se observó una tendencia en el caso de la cepa WKY al pasar más tiempo explorando el objeto novedoso vs. SHR ( $p = 0.63$ ) (Figura 4).

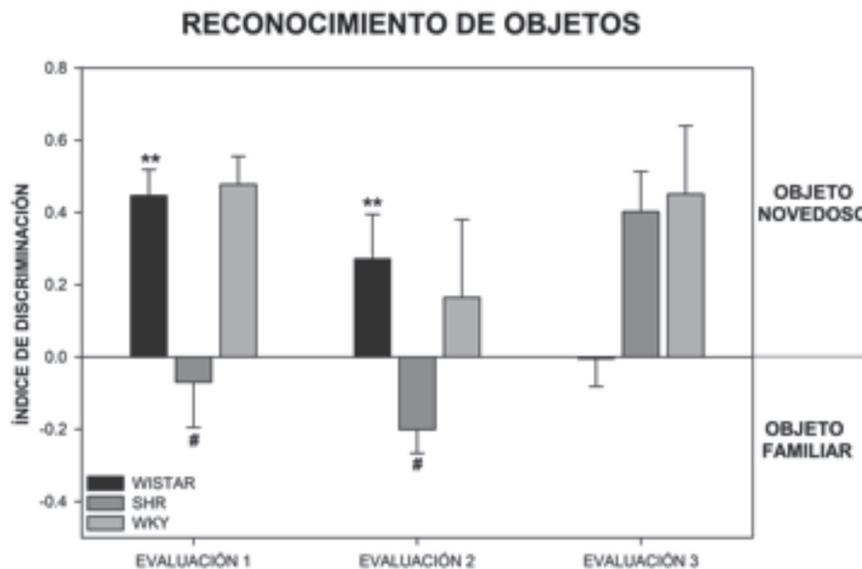


Figura 4. Reconocimiento de Objetos: Índice de discriminación. Los datos están expresados como la Media  $\pm$  Error Estándar.

\*Wistar vs. WKY  $p < 0.05$ ; \*\*Wistar vs. SHR  $p < 0.05$ ; \*\*\*Wistar vs. SHR y WKY  $p < 0.05$ ; #SHR vs. WKY  $p < 0.05$ .

Nado Forzado. El ANOVA de 2 vías de medidas repetidas (cepa x evaluación) para el tiempo de permanencia de la conducta escalamiento la interacción entre ambos factores fue estadísticamente significativa [ $F_{4,67} = 3.107$ ,  $p < 0.05$ ]. El análisis post hoc reveló diferencias entre las evaluaciones por cepa. En el caso de la cepa Wistar y WKY se observó que antes de la exposición a estrés (evaluación 1) tuvo mayor tiempo de escalamiento que decrementó a corto y largo plazo después de la exposición a estrés (evaluación 2 y 3) ( $p < 0.05$ ). Respecto a las diferencias entre cepas en cada evaluación se encontró que la cepa Wistar pasó más tiempo escalando que la cepa SHR (Figura 5A).

Mientras que para el tiempo de permanencia de la conducta de nado la interacción de los factores no fue estadísticamente significativo [ $F_{4,67} = 0.623$ ,  $p = 0.649$ ], sin embargo, los factores cepa [ $F_{2,67} = 9.503$ ,  $p < 0.001$ ]

y evaluación [ $F_{2,67} = 13.803$ ,  $p < 0.001$ ] si fueron estadísticamente significativos. El análisis post hoc reveló diferencias en las tres cepas teniendo un incremento en el tiempo que pasaron nadando después de haber sido expuesta a estrés (evaluación 2) y se mantuvo a largo plazo (evaluación 3) ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, el análisis post hoc reveló que en la evaluación 1 (Figura 5A) y evaluación 2 (Figura 5B) la cepa WKY pasó más tiempo nadando que la cepa Wistar ( $p < 0.05$ ).

Por otra parte, para el tiempo de permanencia de la conducta de inmovilidad la interacción de ambos factores fue estadísticamente significativa [ $F_{4,67} = 2.665$ ,  $p = 0.049$ ]. En el caso de las diferencias entre las evaluaciones en cada cepa el análisis post hoc reveló que en la cepa Wistar tuvo un incremento en la conducta de inmovilidad inmediatamente después de haber sido expuestas

a estrés (evaluación 2) que no se mantuvo a largo plazo (evaluación 3) ( $p < 0.05$  en cada comparación). El incremento de la conducta de inmovilidad de la cepa Wistar en

la evaluación 2 también fue significativa al compararla con las cepas SHR y WKY que permanecieron menos tiempo inmóviles ( $p < 0.05$ ).

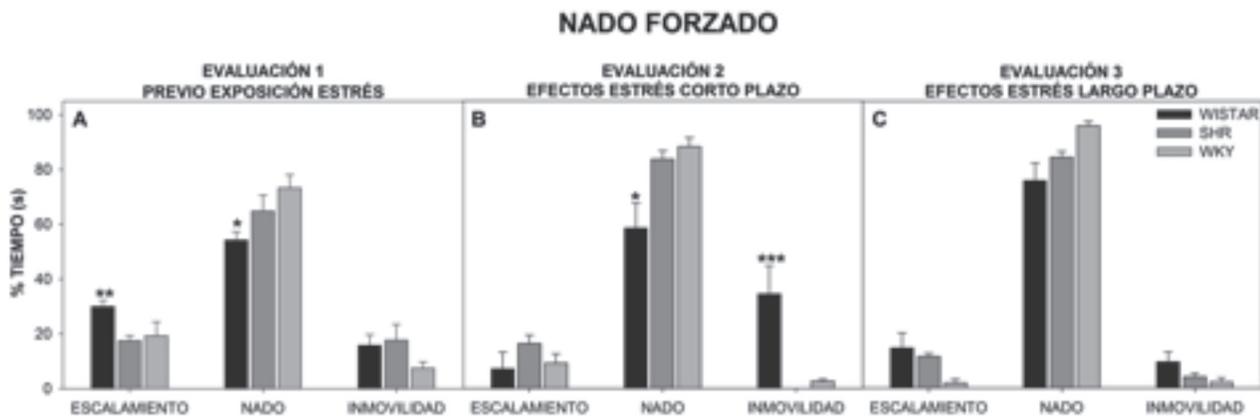


Figura 5. Prueba de Nado Forzado: Se observan los porcentajes del tiempo en cada conducta evaluada. A) Evaluación previa a CUSB; B) Evaluación inmediatamente después de CUSB; y, C) Evaluación después de la ventana de 90 días después CUSB. Los datos están expresados como la Media  $\pm$  Error Estándar. \*Wistar vs. WKY  $p < 0.05$ ; \*\*Wistar vs. SHR  $p < 0.05$ ; \*\*\*Wistar vs. SHR y WKY  $p < 0.05$ ; #SHR vs. WKY  $p < 0.05$ .

## Discusión

En la prueba de Laberinto en Y, el desempeño en las latencias de las cepas WKY y SHR son mayores que la cepa Wistar en todas las evaluaciones, lo que nos indica que tardan más tiempo en llegar al reforzador. El número de errores es mayor en la cepa WKY previo a la exposición de estrés indicando dificultades en la adquisición de la tarea que podrían estar relacionados con alteraciones frontales o en los procesos de memoria espacial relacionados con las alteraciones observadas en hipocampo en estudios previos (Clements & Wainwright, 2010) en comparación con las otras dos cepas. En el caso particular de la cepa SHR se observó que las latencias disminuyeron empero el número de errores en la primera evaluación se mantenían elevados, lo que se podría atribuir a entradas incompletas a los brazos no asociados al reforzador del laberinto. Esto podría reflejar que los sujetos presentan menor flexibilidad cognitiva al no poder cambiar de estrategia (Aupperle, Melrose, Stein & Paulus, 2012).

En la prueba de FST observamos que la cepa Wistar, previo a la exposición de estrés, pasó más tiempo escalando en comparación con las cepas WKY y SHR. Por otra parte, en la conducta de nado, los sujetos de la cepa WKY permanecieron más tiempo nadando en comparación con

las otras cepas, y pasaron menos tiempo inmóviles, lo que es discordante con los resultados de estudios previos (Jiao, et al., 2003; Scholl, et al., 2010). Después de la exposición al estrés el tiempo de inmovilidad en la cepa Wistar incrementó, sin embargo, no se mantuvo después de la ventana de recuperación.

Los resultados obtenidos en la prueba de reconocimiento de objetos muestran que la cepa SHR presenta problemas de memoria de reconocimiento que se ven atenuados después de la exposición a estrés. Mientras que, debido a los resultados de la cepa WKY se podría hablar de deterioro que después de la ventana de recuperación retornó a niveles basales. En este estudio se observó que las tres cepas pasan más tiempo en periferia en la prueba de CA, sin embargo, la cepa SHR en la primera evaluación pasa más tiempo en el centro de la arena de CA, contrario a la WKY que permanece menos tiempo en la misma área a lo largo de todas las evaluaciones indicando que la cepa WKY muestra mayores niveles de ansiedad. No obstante, después de la exposición a estrés el tiempo de permanencia disminuyó en el caso de la cepa SHR.

Sí existen diferencias conductuales entre las tres cepas previo a la exposición a estrés, no obstante, después de la exposición a estrés crónico impredecible se observan

diferencias en la ejecución, en algunos casos se mantiene, en otros casos mejora y otros se ve deteriorada, incluso después de una ventana de recuperación se ven estas discrepancias entre las cepas. Lo anterior permite cuestionarnos los efectos específicos del estrés en presencia de fenotipos conductuales particulares, no sólo a corto sino a largo plazo.

Tomando en cuenta todos esos antecedentes las diferencias entre las cepas utilizadas como modelos animales, más que considerarse como obstáculos o datos de comparación, podrían utilizarse como una aproximación de las variaciones naturales de la población que nos permitiría examinar los mecanismos que contribuyen a las diferencias individuales en las funciones conductuales y cognitivas en la población humana (Clements & Wainwright, 2007; Robertson, Clements & Wainwright, 2008).

### Agradecimientos

Los autores agradecen al MVZ Gabriel Solana por el apoyo técnico en el manejo de los sujetos experimentales.

### Referencias

- Armario, A., Gavaldà, A. & Martí, J. (1995). Comparison of the behavioral and endocrine response to forced swimming stress in five inbred strains of rats. *Psychoneuroendocrinology*, 20(8), 879-890.
- Aupperle, R.L., Melrose, A.J., Stein, M.B. & Paulus, M.P. (2012). Executive function and PTSD: Disengaging for trauma. *Neuropharmacology*, 62, 686-694.
- Bangasser, D.A. & Valentino, R.J. (2014). Sex differences in stress related psychiatric disorders: Neurobiological perspectives. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35, 303-319.
- Braw, Y., Malkesman, O., Dagan, M., Bercovich, A., Lavi-Avnon, Y., Schroeder, M., Overstreet, D.H. & Weller, A. (2006a). Anxiety-like behaviors in pre-pubertal rats of the Flinders Sensitive Line (FSL) and Wistar-Kyoto (WKY) animal models of depression. *Behavioural Brain Research*, 167, 261-269.
- Clements, K.M. & Wainwright, P.E. (2006). Spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague Dawley rats differ in performance on a win-shift task in the water radial arm maze. *Behavioural Brain Research*, 167, 295-304.
- Clements, K.M. & Wainwright, P.E. (2007). Spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague Dawley rats differ in performance on a win-stay task and a conditioned cue preference task in the water radial arm maze. *Behavioural Brain Research*, 183, 169-177.
- Clements, K.M. & Wainwright, P.E. (2010). Swim stress increase hippocampal Zif268 expression in the spontaneously hypertensive rat. *Brain Research Bulletin*, 82, 259-263.
- Courvosier, H., Moisan, M.P., Sarrieau, A., Hendley, E.D. & Mormède, P. (1996). Behavioral and neuroendocrine reactivity to stress in the WKHA / WKY inbred rat strains: a multifactorial and genetic analysis. *Brain Research*, 743, 77-85.
- Czéh, B., Simon, M., Schmelting, B., Hiemke, C. & Fuchs, E. (2006). Astroglial Plasticity in the Hippocampus is Affected by Chronic Psychosocial Stress and Concomitant Fluoxetine Treatment. *Neuropsychopharmacology*, 31, 1616-1626.
- De La Garza, R. & Mahoney, J.J. (2004). A distinct neurochemical profile in WKY rats at baseline and in response to acute stress: implications for animal models of anxiety and depression. *Brain Research*, 1021, 209-218.
- Faraday, M.M. (2002) Rat sex and strain differences in responses to stress. *Physiology & Behavior*, 75(4), 507-522.
- Grauer, E. & Kapon, Y. (1993). Wistar-Kyoto rats in the Morris water maze: impaired working memory and hyper-reactivity to stress. *Behavioural Brain Research*, 59, 147-151.
- Hendley, E.D., Wessel, D.J., Atwater, D.G., Gellis, J. Whitehorn, D. & Low, W.C. (1985). Age, sex and strain differences in activity and habituation in SHR and WKY rats. *Physiology & Behavior*, 34, 379-383.
- Hinojosa, F.R., Spricigo, L., Izídio, G.S., Brüske, G.R., Lopes, D.M. & Ramos, A. (2006). Evaluation of two genetic animal models in behavioral test of anxiety and depression. *Behavioural Brain Research*, 168, 127-136.
- Jiao, X., Paré, W.P., Tejani-Butt, S. (2003). Strain differences in the distribution of dopamine transporter sites in rat brain. *Progress in NeuroPsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 27, 913-919.

- Joëls, M. & Baram, T.Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 304-314.
- Li, Q., Lu, G., Antonio, G.E., Mak, Y.T., Rudd, J.A., Fan, M. & Tew, D.T. (2007). The usefulness of spontaneously hypertensive rat model attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) may be explained by the differential expression of dopamine-related genes in the brain. *Neurochemistry International*, 50, 848-857.
- Malkesman, O., Maayan, R., Weizman, A. & Weller, A. (2006). Aggressive behavior and HPA axis hormones after social isolation in adult rats of two different genetic animal models for depression. *Behavioural Brain Research*, 175, 408-414.
- Migliaro, M., Sandoval-Flores, N., Benítez-Serratos, F., Valencia-Flores, K.B., Orizaba-Huerta, C., Sánchez-Macías, M., García-Valencia, M., Velázquez-Martínez, D.N., Galicia, O., Paz-Trejo, D.B., Zarate-González, P. & Sánchez-Castillo, H. (2016). Effects of different exposure times to predator scent in rats. Program No. 169.05/BBB2.2016 Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2016. Online.
- Novais, A., Monteiro, S., Roque, S., Correia-Neves, M. & Sousa, N. (2017). How age, sex and genotype shape the stress response. *Neurobiology of Stress*, 6, 44-56.
- O'Mahony, C.M., Clarke, G., Gibney, S., Dinan, T.G. & Cryan, J.F. (2011). Strain differences in the neurochemical response to chronic restraint stress in the rat: relevance to depression. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 97, 690-699.
- Pardon, M.C., Gould, G.G., Garcia, A., Phillips, L., Cook, M.C., Miller, S.A., Mason, P.A. & Morilak, D.A. (2002). Stress reactivity of the brain noradrenergic system in three rat strains differing in their neuroendocrine and behavioral responses to stress: implications for susceptibility to stress-related neuropsychiatric disorders. *Neuroscience*, 115(1), 229-242.
- Paré, W.P. (1992) The performance of WKY rats on three test of emotional behavior. *Physiology & Behavior*, 51, 1051-1056.
- Paré, W.P. & Kluczynski, J. (1997). Differences in the stress response of Wistar-Kyoto (WKY) rats from different vendors. *Physiology & Behavior*, 63(3), 643-648.
- Qiong, L., Bing, L., Hai-Yan, Z., Yan-Qing, W., Jin, Y. & Gen-Cheng, W. (2009). Clomipramine treatment reversed the glial pathology in a chronic unpredictable stress-induced rat model of depression. *European Neuropsychopharmacology*, 19, 796-805.
- Rittenhouse, P.A., López-Rubalcava, C., Stanwood, G.D. & Lucki, I. (2002). Amplified behavioral and endocrine responses to forced swim stress in the Wistar-Kyoto rat. *Psychoneuroendocrinology*, 27, 303-318
- Robertson, B.A., Clements, K.M. & Wainwright, P.E. (2008). The working memory capabilities of the spontaneously hypertensive rat. *Physiology & Behavior*, 94, 481-486.
- Sánchez-Castillo, H., Paz-Trejo, D.B., Vázquez, R.M., Zarate-González, P. & Migliario M. (2014). Neurobiology of Posttraumatic Stress Disorder (PTSD) and its Frontostriatal Implications: a short review. *Actualidades en Psicología*, 28(117), 13-20.
- Sánchez-Castillo, H., Torres-Carrillo, P., Rojas-Lita, B., Mendoza-Rosales, C. E., Migliario, M., Paz-Trejo, D., ..., Hong, E. (2015). Long-term effects caused by the exposure to unpredictable chronic stress, Program No.812.08/X41. (S. f. Neuroscience, Ed.) Chicago, Illinois: Neuroscience 2015 Abstracts.
- Scholl, J.L., Renner, K.J., Forster, G.L. & Tejani-Butt, S. (2010). Central monoamine levels differ between rat strains used in studies of depressive behavior. *Brain Research*, 1355, 41-51.
- Stepanichev, M.Y., Tishkina, A.O. Novikova, M.R., Levshina, I.P., Freiman, S.V., Onufriev, M.V., Levchenko, O.A. Lazareva, N.A. & Gulyaeva, N.V. (2016). Anhedonia but not passive floating is an indicator of depressive-like behavior in two chronic stress paradigms. *Acta Neurobiol Exp*, 76, 324-333.
- Ursano, R.J., Li, H. Zhang, L., Hough, C.J., Fullerton, C.S., Benedek, D.M., Grieger, T.A. & Holloway, H.C. (2008). Models of PTSD and traumatic stress: the importance of research "from bedside to bench to bedside". En de Kloet, E.R., Oitzl, M.S. & Vermetten, E. (Eds.) *Stress hormones and posttraumatic stress disorder: basic studies and clinical perspectives*. (pp. 2013-215) *Progress in Brain Research*, 147, Elsevier.
- Will, C.C., Aird, F. & Redei, E.E. (2003) Selectively bred Wistar-Kyoto rats: an animal model of depression and hyper-responsiveness to antidepressants. *Molecular Psychiatry*, 8, 925-932.