



FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS
MENCIÓN NEUROCIENCIA

**Efecto del estrés por derrota social sobre la actividad oscilatoria gamma en el núcleo
accumbens de ratas durante la interacción social**

ANN MARY ITURRA MENA
Tesis para optar al grado de
Doctor en Ciencias Mención Neurociencia

Director de Tesis:
Prof. Dr. Alexies Dagnino Subiabre

Universidad de Valparaíso

ABREVIACIONES

NAc: Núcleo accumbens

LFP: Potencial de campo local

EEG: Electroencefalograma

CSDS: Estrés crónico por derrota social

MSN: Neuronas espinosas medianas

FSI: Interneuronas de disparo rápido

RDoC: Research Domain Criteria

s: segundos

m: metros

cm: centímetros

dB: decibels

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la prueba de interacción social utilizada para clasificar a los animales en susceptibles y resilientes.

Figura 2. Diseño experimental

Figura 3. El estrés por derrota social disminuyó la ganancia de peso de las ratas independiente de su fenotipo conductual.

Figura 4. Actividad locomotora y conductas similares a ansiedad y depresión post-estrés por derrota social:

Figura 5. Localización de los electrodos.

Figura 6. Las oscilaciones gamma en el NAc fueron moduladas por la interacción social.

Figura 7. El aumento en el poder de gamma alto no se debió al efecto de la novedad.

Figura 8. Las oscilaciones gamma en el NAc son independientes de la actividad locomotora.

Figura 9. El cambio en el poder de gamma en el NAc entre la condición social y no social, fue menor en las ratas susceptibles en comparación a las resilientes y controles.

Figura 10. Posible mecanismo explicativo.

RESUMEN

El núcleo accumbens es parte del sistema de recompensa cerebral y modula el comportamiento social. Un déficit en este dominio es común en varios trastornos neuropsiquiátricos relacionados con el estrés. Ha surgido la especulación sobre el posible papel de las oscilaciones neuronales en la vulnerabilidad al estrés. La hipótesis de este estudio es que las oscilaciones del potencial de campo local en el núcleo accumbens están implicadas en la susceptibilidad y la resiliencia al estrés por derrota social. Ratas macho *Sprague-Dawley* fueron sometidas a un paradigma de estrés por derrota social crónica y luego se clasificaron en susceptibles o resilientes según su tiempo de interacción social en una prueba clásicamente utilizada para este fin. Posteriormente, se implantó un arreglo de microelectrodos en el núcleo accumbens de todos los animales. La actividad del potencial de campo local se adquirió utilizando un sistema de registro inalámbrico en dos condiciones; no-social (prueba de campo abierto) y social, donde las ratas implantadas interactuaron libre y continuamente con una rata desconocida del mismo sexo. Se observó que el poder de la banda gamma-alta (61-90 Hz) en el núcleo accumbens fue mayor en las ratas resilientes al estrés durante la interacción social en comparación con la condición no social. Por el contrario, las oscilaciones gamma en aquellas ratas que fueron susceptibles al estrés no variaron entre la condición social y no-social. Estos hallazgos sugieren que las oscilaciones gamma en el núcleo accumbens pueden jugar un papel clave en la susceptibilidad al estrés por derrota social.

INTRODUCCIÓN

Los humanos, así como también muchas otras especies de mamíferos, exhiben conductas sociales que implican distintas ventajas evolutivas (1). Junto a esto, la recompensa social es crucial para el bienestar emocional y el deterioro en este dominio es un síntoma clave en los trastornos del ánimo (2). Una de estas condiciones es la depresión, desorden que se caracteriza por la ‘anhedonia’ - la disminuida reactividad a los estímulos placenteros - así como por un déficit en el procesamiento de la recompensa (3).

Se ha demostrado que el núcleo accumbens (NAc) está involucrado en la motivación de llevar a cabo conductas sociales (4–6) y que el condicionamiento de la recompensa para ambos, drogas e interacción social lleva a un incremento en la actividad eléctrica en el NAc (7). Similarmente, estudios clínicos sugieren que la responsividad del NAc está alterada en pacientes depresivos (8,9) y que la estimulación cerebral profunda dirigida al NAc, tiene efectos antidepresivos en individuos con depresión resistente al tratamiento (10,11).

Las oscilaciones cerebrales en el electroencefalograma (EEG) o a nivel de potencial de campo local (LFP), han sido relacionados con la actividad de distintas funciones cognitivas en estructuras corticales y subcorticales (12) y también con la sintomatología de los trastornos neuropsiquiátricos (13,14). Estudios en humanos muestran que las alteraciones en las oscilaciones gamma (30-90 Hz) en el EEG de humanos se asocian a depresión mayor (13,14). En línea con esto, las oscilaciones gamma en el NAc de humanos (15,16) y ratas (17,18) son evocadas durante el procesamiento de la recompensa. Sin embargo, el rol de las oscilaciones gamma en el NAc durante la interacción social en sujetos depresivos y sanos, se desconoce.

Se ha observado que las oscilaciones gamma adquiridas en el NAc se separan en dos bandas de frecuencia, una centrada cerca entre los 30-60 Hz (gamma-baja) y otra banda más amplia entre cerca de los 60-90 Hz (gamma-alta), cada una con distintos correlatos conductuales (19). Por ejemplo, las oscilaciones gamma-alta aumentan transitoriamente en el momento de la obtención de una recompensa, mientras que gamma-baja se suprime (17,18). Las oscilaciones gamma en ambas bandas ocurren en ‘bursts’ de ~150–250 ms y

tienden a alternar espontáneamente en lugar de co-ocurrir, sugiriendo un grado de coordinación mutuamente excluyente entre ambas (19).

Por otro lado, el estrés crónico es un factor de riesgo ambiental clave para los trastornos del ánimo como la depresión mayor (20,21). El estrés puede precipitar síntomas en individuos sanos (22,23), así como déficits en el funcionamiento del sistema de recompensa cerebral en animales de laboratorio (24,25). El estrés ha mostrado también alterar el aprendizaje de la recompensa en humanos (26–29) y ratas (30). En línea con esto, el estrés crónico social (CSDS) es un modelo animal comúnmente usado para estudiar la susceptibilidad y resiliencia a conductas similares a depresión en roedores (31). El CSDS disminuye de manera importante la actividad del sistema de recompensa, resultando en una respuesta anhedónica de largo plazo en ratas (24), una característica que solo puede ser revertida con tratamiento antidepresivo (32–34).

Por otra parte, mientras los eventos estresantes son una importante causa de psicopatología, un gran número de individuos expuestos a dichos eventos mantienen un funcionamiento psicológico normal (23,35). Estos individuos, ya sea humanos o animales, son llamados ‘resilientes’, entendiendo la resiliencia como ‘el proceso de adaptarse bien frente a la adversidad’ (23), es por eso que estos sujetos no desarrollan los síntomas característicos de los trastornos relacionados con el estrés.

Diversas alteraciones funcionales en el NAc son inducidas por el CSDS en roedores, no solo a nivel molecular, sino también en la morfología neuronal y plasticidad sináptica en roedores (36). La mayoría de estas alteraciones ha sido encontradas en experimentos *ex vivo* (36,37), mientras que los estudios *in vivo* son escasos. En ratones despiertos, se han encontrado alteraciones en el perfil metabólico y la actividad de las neuronas espinosas medianas (MSN) (38–40). También se ha observado que el estrés crónico generaría una disminución en los niveles de dopamina liberada en el NAc (41).

Estas evidencias hacen surgir la pregunta sobre **cuáles son los efectos del CSDS en las oscilaciones neurales en el NAc cuando los animales interactúan socialmente y de manera espontánea con un conspecífico**. En línea con esto, la hipótesis de esta tesis es que **el CSDS altera las oscilaciones gamma en el NAc durante la interacción social**. Con el fin de probar esta hipótesis se llevó a cabo el registro

electrofisiológico *in vivo* de las ratas que eran susceptible y resilientes al estrés por derrota social, en el momento en que desarrollaban interacción social con un conspecífico.

Por último, entre los factores que dan cuenta de la relevancia de la presente investigación, cabe destacar que el estudio de los fenómenos de susceptibilidad y resiliencia al desarrollo de la depresión, permite incorporar la variabilidad intersujeto que existe frente a una misma patología. La importancia de investigar dicha variabilidad en los trastornos del ánimo, ha sido iniciada por el proyecto Research Domain Criteria (RDoC) del National Institute of Mental Health (NIMH) (42). RDoC sugiere una aproximación dimensional, que examina el completo rango de variación desde normalidad hasta anormalidad entre componentes funcionales fundamentales (42). Es por eso que los estudios actuales en modelos preclínicos de depresión deberían ir más allá de una simple clasificación categorial de este trastorno y considerar los fenotipos susceptibles y resilientes a desarrollar conductas similares a la depresión en modelos animales. Esto nos da la posibilidad de encontrar nuevas dianas terapéuticas ajustadas a la amplia variabilidad que existe entre los sujetos frente a una misma categoría diagnóstica.

Por otro lado, los registros electrofisiológicos permiten la observación directa de la actividad neural sincronizada con alta resolución temporal y se argumenta que tienen una mayor validez para la comparación entre especies de los efectos de los fármacos y el comportamiento en comparación con las medidas celulares o moleculares (43). Además, la iniciativa RDoC, ha enfatizado el desarrollo de medidas funcionales y traslacionales del compromiso objetivo que son similares en todas las especies, alentando también el estudio de comportamientos complejos como la interacción social y su relación con los trastornos psiquiátricos (44).

OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

Para responder a la pregunta investigación y verificar la hipótesis, se plantearon los siguientes objetivos de investigación:

OBJETIVO GENERAL:

Determinar el efecto del estrés por derrota social sobre la actividad oscilatoria gamma en el núcleo accumbens (NAc) de ratas susceptibles y resilientes, durante la interacción social espontánea.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar la dinámica de las oscilaciones gamma en el NAc de ratas durante la ejecución de conductas sociales y no sociales.
2. Identificar el efecto de la novedad y de la actividad locomotora como variables intervinientes que podrían afectar la actividad oscilatoria gamma durante la interacción social de ratas.
3. Determinar las diferencias en la actividad oscilatoria gamma en el NAc de ratas susceptibles y resilientes al estrés por derrota social, durante la interacción social.

MATERIALES Y METODOS

Animales

Se utilizaron ratas *Sprague Dawley* macho (Charles River Laboratories, Wilmington, EE. UU.) pesando 380-420 g (80-85 días) al comienzo del experimento, para los experimentos electrofisiológicos y ratas adultas *Long Evans* macho (700- 850 g) (Charles River Laboratories, Senneville, QC, Canadá) se utilizaron como agresores en el paradigma del estrés por derrota social. Todas las ratas se mantuvieron en un ciclo de luz / oscuridad de 12 horas (luces encendidas a las 8:00 am) y se les proporcionó alimento (Prolab RMH 3000, LabDiet®, MO, EE. UU.) y agua *ad libitum*. Los experimentos se realizaron durante la fase de luz. Los animales se mantuvieron en una habitación con temperatura y humedad controladas (21 ± 1 ° C, 55%) y se alojaron en grupos de 2 a 3 antes de la implantación de los electrodos. Después de la cirugía y para el resto de los experimentos, se alojaron individualmente. Los animales bajo el protocolo de estrés se separaron de los controles y se mantuvieron en una habitación diferente especialmente diseñada para ellos. Los pesos corporales fueron monitoreados tres veces por semana. Todos los procedimientos de experimentación y mantenimiento de animales fueron aprobados por el Comité Institucional de Ética Animal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso (Chile) y se ajustaron estrictamente a los estándares de cuidado animal descritos en las pautas del National Institutes of Health (E.E.U.U.). Se hicieron esfuerzos para minimizar la cantidad de animales utilizados y su sufrimiento.

Protocolo de estrés crónico por derrota social

El protocolo de CSDS utilizado en este estudio se modificó del modelo de intruso residente (45). Los animales del grupo de estrés se sometieron a CSDS durante 7 días consecutivos. Durante cada episodio de estrés social, una rata *Sprague Dawley* (intrusa) se colocó en la jaula de una rata macho *Long-Evans* desconocida (residente) previamente examinada para detectar alta agresión. Un encuentro agonístico típico resulta en la subordinación o ‘derrota’ del intruso, señalada cuando el intruso asume una posición supina durante aproximadamente 3 segundos. Después de la derrota, se colocó una separación de acrílico

transparente con agujeros en la jaula para evitar el contacto físico entre el residente y el intruso, pero permitiendo el contacto visual, auditivo y olfativo durante el resto de la sesión de derrota de 30 minutos. Si un intruso resistía la derrota durante 15 minutos, las ratas se separaban con la partición de acrílico durante el resto de la sesión. Las ratas fueron devueltas a su jaula después de cada sesión.

Clasificación del grupo de estrés.

Se usó una prueba de interacción social (36) para clasificar a los animales estresados como "susceptibles" o "resilientes" previo a la cirugía de implante de electrodos (Fig. 1). Primero, los animales se colocaron en un campo abierto con una caja perforada ubicada en una zona de interacción designada durante 5 minutos para permitir la habituación al ambiente y la exploración de objeto nuevo. Posteriormente, se colocó una rata *Sprague-Dawley* macho, previamente evaluada como no-agresiva, durante 15 minutos en la caja perforada y se evaluó el tiempo que la rata experimental dedicaba a interactuar con este nuevo estímulo social en la zona de interacción, utilizando el software EthoVision® XT (Noldus, Wageningen, Países Bajos). Para cada experimento, los animales se consideraron susceptibles si el tiempo de interacción era al menos dos desviaciones estándar por debajo de la media de los animales controles *naive* o resilientes si no caían en esta categoría (36). Después de esta clasificación, los animales del grupo de estrés se sometieron a cirugía para el implante de electrodos.

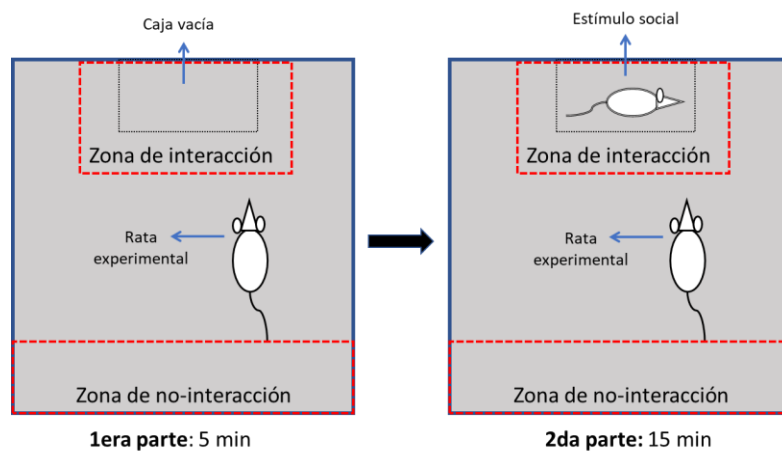


Figura 1. Esquema de la prueba de interacción social utilizada para clasificar a los animales en susceptibles y resilientes.

Evaluación de la actividad locomotora

Para medir la actividad locomotora y conductas similares a ansiedad en los animales, se utilizó el Test de Campo Abierto. Cada rata se colocó en el centro de una jaula de plexiglás negro (70 x 70 x 40 cm) durante 5 min. El ruido en el campo abierto fue de 40 dB (Medidor de nivel de sonido de precisión, Modelo # 1100, Quest Technologies, Oconomowoc, WI) y la arena se iluminó a 300 ± 20 lux (medido por medidor de lux digital, Modelo # LX-1010B, Weafo Instrument Co., Shanghai, China). El tiempo transcurrido en la zona central y periférica de la arena, la distancia total recorrida y la velocidad máxima se analizaron a partir de grabaciones en video. Y fueron analizados de forma automática con el software EthoVision® XT (Noldus, Wageningen, Países Bajos).

Evaluación de anhedonia

Como medida control de la eficacia del protocolo de estrés por derrota social, se evaluó la anhedonia de los animales. Para ello, se utilizó la Prueba de Preferencia de Sacarosa, en la cual primero se entrenó durante 3 días a los animales a consumir líquido dulce (sacarosa al 5%) para luego ser evaluados. La noche previa al test los animales fueron privados de agua por 12 horas y se les evaluó en la mañana siguiente, permitiéndoles escoger entre dos botellas, una conteniendo solo agua y la otra conteniendo la solución de sacarosa al 5%. Se midió la cantidad de líquido consumido por las ratas y se obtuvo el porcentaje de preferencia de líquido dulce respecto al líquido neutro.

Cirugía

El protocolo preoperatorio consistió en 10 mg/kg de doxiciclina aplicada por vía oral un día antes de la cirugía, así como acepromazina 2,5 mg/kg y atropina 0,1 ml (ambos intramusculares) 30 minutos antes de la cirugía. Durante la cirugía, se administraron 5 mg/kg de ketoprofeno subcutáneo, 10 mg / kg de doxiciclina subcutánea y 10 mg/kg de tramadol intraperitoneal. Para el período postoperatorio, se aplicaron oralmente 2,5 mg / kg de ketoprofeno y 10 mg / kg de doxiciclina oral durante 3 días.

Las ratas se anestesiaron con isoflurano (inducción 3%, mantenimiento 2%) en O₂. La temperatura corporal se mantuvo a 37°C con un sistema controlador de temperatura (RWD, Cat. No. 69001, Shenzhen, P.R. China). Las ratas se aseguraron en un marco estereotáxico y se implantaron unilateralmente en el NAc izquierda con un arreglo de microelectrodos dirigido a las siguientes coordenadas: 1,8 mm anterior al bregma, 1,0 mm lateral a la línea media y 7,5 ventral desde el cráneo (46). Todos los implantes fueron asegurados utilizando acrílico dental. Las ratas se implantaron crónicamente con un arreglo de microelectrodos (Microprobes for Life Sciences, Gaithersburg, MD, EE. UU.) que constaba de 4 alambres de platino/iridio aislados individualmente (75 µm de diámetro, 3 MΩ, 250 µm de separación entre electrodos y filas) y unidos a una conector omnético (Omnetics Connector Corp., Minneapolis, MN, EE. UU.). Se usó una referencia local del mismo metal pero menor impedancia (10 KΩ) que los electrodos de registro. La tierra consistía en un cable de acero inoxidable conectado al cráneo a través de un tornillo ubicado en el área del cerebelo.

Después de la cirugía, se permitió que las ratas se recuperaran durante 7 días y se habituaron diariamente a la manipulación, con el especial énfasis en la cabeza, para evitar cualquier posible estrés que pudiera generar la conexión del headstage durante los registros electrofisiológicos.

Electrofisiología *In vivo*

Los datos se adquirieron con un sistema inalámbrico (W2100, Multichannel Systems MCS GmbH, Harvard Bioscience, Inc., Reutlingen, Alemania) utilizando un headstage de 16 canales con un amplificador con ancho de banda de 1 Hz a 5 kHz y una tasa de muestreo de 25 kHz (ganancia de 101, impedancia de entrada a 1 GΩ, resolución de 16 bits, rango de voltaje de entrada de ± 12.4 mV, ruido de entrada de <1.9 µVRMS y la distancia para el enlace inalámbrico de 5 metros). El software de adquisición usado fue el Multichannel Suite (Multi Channel Systems MCS GmbH, Harvard Bioscience, Inc., Reutlingen, Alemania).

Las señales fueron resampladas offline a 1 kHz y el paso de banda se filtró entre 1 y 100 Hz. También se aplicó un filtro notch para la línea de 50 Hz utilizando EEGLab (47). Utilizando EEGLab, dos investigadores rechazaron visualmente los electrodos con baja calidad de señal y artefactos de movimiento,

basándose en las características espectrales y en el dominio del tiempo, y se confirmaron mediante el análisis automatizado del movimiento de los videos registrados.

El análisis espectral se realizó con el método multitaper utilizando toolbox Chronux (48). Se extrajeron 150 segundos de señal en cada condición y se ajustaron los parámetros del multitaper utilizando longitudes de ventana de $T = 2$ s con 1.9 s de solapamiento; producto tiempo-ancho de banda $TW = 2$, y número de tapers $K = 3$.

El poder promedio en el rango de frecuencia de 30–90 Hz se calculó para cada condición, y la escala lineal se cambió a dB para el trazado del espectro y el análisis estadístico. Para comparar el cambio en el poder inducido por la interacción social entre los grupos de ratas, se promediaron los poderes espectrales de cada animal, en cada grupo, para las bandas de frecuencia gamma-baja (30-60 Hz) y gamma-alta (61-90 Hz), entre una condición y otra, para luego obtener los porcentajes de cambio en el poder de la condición de interacción social espontánea respecto de la condición basal (condición no-social).

Tamaño muestral

Para calcular el tamaño de la muestra, ya que no había información suficiente para determinar a priori el efecto sobre la variable respuesta, se utilizó la Regla de Detención Secuencial (49,50). Para ello, se usaron valores P de 0.05 y 0.36 para los criterios inferior y superior (50). Además, se descartaron tres ratas de los experimentos, porque una rata no se sometió al procedimiento de registro debido a un desprendimiento prematuro del implante (grupo control) y dos ratas se descartaron debido a un fallo del microelectrodo (grupo estrés, susceptible). En resumen, se comenzó con 16 ratas en total (10 ratas del grupo estrés y 6 controles), pero se perdieron 3 ratas durante el experimento, por lo que el número total de sujetos se estableció en $n = 13$ ($n = 5$ controles y $n = 8$ ratas estresadas).

Las ratas se asignaron al azar al grupo de control o estrés de derrota social, utilizando el método de dígitos aleatorios. Las ratas del grupo de estrés por derrota social se clasificaron en susceptibles y resistentes de acuerdo con sus tiempos de interacción en la prueba de interacción social, como ya se describió previamente ($n = 4$ cada grupo).

Pruebas de comportamiento

Antes de las pruebas de comportamiento, las ratas se habituaron a la sala de pruebas durante 30 minutos, 3 días consecutivos. Las ratas control y estresadas se sometieron a una prueba que consistía en tres fases: en la primera, se introdujeron durante 5 minutos en un campo abierto que consistía en una jaula cuadrada de plexiglás (70 x 70 x 40 cm), en la que los animales pueden explorar libremente (condición no social). Luego, se introdujo en la caja un objeto nuevo que consiste en un pequeño cubo de acrílico transparente, lo que les permitió explorarlo libremente durante 5 minutos y luego se eliminó el objeto nuevo (objeto nuevo). Finalmente, otra rata *Sprague Dawley* del mismo sexo, con un peso similar y previamente evaluada como "no agresiva" se introdujo en el campo abierto, lo que permitió a los animales interactuar libremente de manera ecológica (condición social) durante 5 minutos. Para el análisis posterior de los comportamientos, todas las pruebas se registraron con un sistema de video integrado y sincronizado con el registro electrofisiológico (W2100-Video-System, Multichannel Systems MCS GmbH, Harvard Bioscience, Inc., Reutlingen, Alemania). Además, para medir la velocidad y las coordenadas espaciales de los animales cuando realizaban las tareas, se usó el EthoVision® XT (Noldus, Wageningen, Países Bajos)

Histología

Una vez que se completó la recolección de datos, se pasó una corriente de 25 μ A a través de los electrodos durante 20 s cada uno, para obtener una marca electrolítica y verificar *post-mortem* el posicionamiento de los electrodos. Tres días después de la gliosis, las ratas se anestesiaron con isoflurano y se perfundieron intracardialmente con paraformaldehído al 4% en PBS. Los cerebros se extrajeron y se almacenaron en paraformaldehído al 4% con 30% de sacarosa antes de cortarlos en secciones de 50 μ m usando un criostato (Kedee KD-2950, Zhejiang Jinhua Kedi Instrumental Equipment Co. Ltd, Zhejiang, China). Las secciones se montaron en portaobjetos recubiertos de gelatina y se tiñeron con el método de Nissl. Solo se analizaron los datos de los electrodos con posicionamiento confirmado en la NAc (Fig. 1A y 3C).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando Prism 7 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EE. UU.) o MATLAB (MathWorks, Natick, MA, EE. UU.). Primero se aplicó el test Shapiro-Wilk para probar la normalidad de la distribución de las variables y se determinó que todas las variables cumplieron con la distribución normal y homogeneidad de varianza evaluada con la prueba de Levene, por lo que se procedió a utilizar la prueba T para muestras pareadas de dos colas, con el fin de comparar las diferencias en el poder de gamma-alta y baja entre las condiciones conductuales. También se aplicó ANOVA de una vía para comparar los porcentajes de cambio en el poder de gamma-alta y baja entre los grupos. Las prueba post hoc de Holm-Sidak's se utilizó para comparaciones múltiples después de un ANOVA significativo.

Un nivel de probabilidad de 0.05 o menos fue aceptado como significativo. Los resultados en las figuras de poder espectral, se expresaron como la mediana y el intervalo de confianza del 95%.

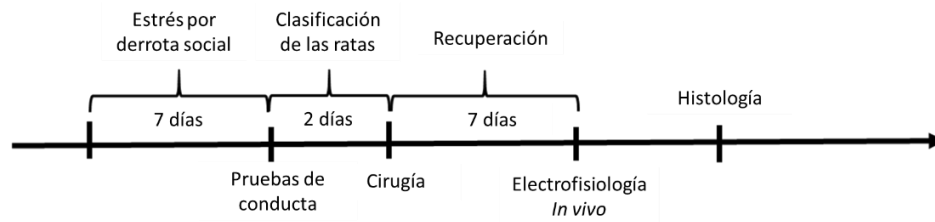


Figura 2. Línea de tiempo del diseño experimental. Las ratas *Sprague-Dawley* fueron sometidas a estrés por derrota social durante 7 días seguidos y luego se evaluaron conductualmente en el Test de Campo Abierto, la Prueba de Preferencia de Sacarosa y la prueba de Interacción Social para clasificarlas en resilientes y susceptibles según su tiempo de interacción social. Posteriormente, las ratas de implantaron con un arreglo de microelectrodos en el NAc y se les dio un tiempo de recuperación de 7 días, para posteriormente evaluarlas conductualmente durante el registro de LFP y finalizar los experimentos con histología Nissl para verificación de posicionamiento de electrodos.

RESULTADOS

El estrés crónico por derrota social alteró la ganancia de peso y generó conductas tipo depresivas en las ratas

Con el fin de evaluar la eficacia del protocolo de estrés por derrota social implementado, se midió la ganancia de peso de los animales durante los 7 días que duró el protocolo. El ANOVA arrojó diferencias significativas en la ganancia de peso entre los grupos ($F(2, 10) = 6.384$; $P = 0.0163$). En las comparaciones múltiples, se observó que los animales sometidos a estrés por derrota social, tanto susceptibles como resilientes, mostraron una similar disminución en la ganancia de peso al comparar ambos grupos ($P = 0.8227$), en cambio el grupo control ganó evidentemente más peso que las susceptibles ($P = 0.0306$) y resilientes ($P = 0.0309$) (Fig.3). Junto con esto, se evaluó la actividad locomotora y conductas similares a ansiedad de los animales en el Test de Campo Abierto (Fig.4 a-d). La distancia recorrida y velocidad media de los animales en el campo abierto fue similar en todos los grupos ($t=1.483$ $df=11$; $P = 0.1662$ y $t=1.824$ $df=11$; $P = 0.0954$, respectivamente). En cuanto a las conductas similares a ansiedad, no se observaron diferencias significativas en el tiempo que los animales pasaban en el centro ($t=0.8508$ $df=11$; $P = 0.4130$) ni en la periferia ($t=0.8508$ $df=11$; $P = 0.4130$) del campo abierto.

También se evaluaron las conductas similares a depresión en los animales, a partir del test de preferencia de sacarosa (Fig. 4 e), el cual permite obtener un indicador de conducta similar a anhedonia en las ratas. En este test, el ANOVA arrojó diferencias entre los grupos ($F(2, 10) = 20$; $P < .001$) y las comparaciones múltiples mostraron que los animales susceptibles presentaron la menor preferencia de sacarosa (Control vs. Susceptible $P < .001$ y Resiliente vs. Susceptible $P = 0.005$). Por último, en la prueba clásica de interacción social con la cual los animales fueron clasificados dentro del grupo resiliente y susceptible (Fig. 4 f-g), las diferencias arrojadas por el ANOVA fueron altamente significativas ($F(2, 10) = 69.77$; $P < 0.0001$) con una media para el grupo control de 391.8 ± 19.67 s en la zona de interacción, para el grupo resiliente de 334.9 ± 16.91 s y 76.2 ± 22.49 s para el grupo susceptible.

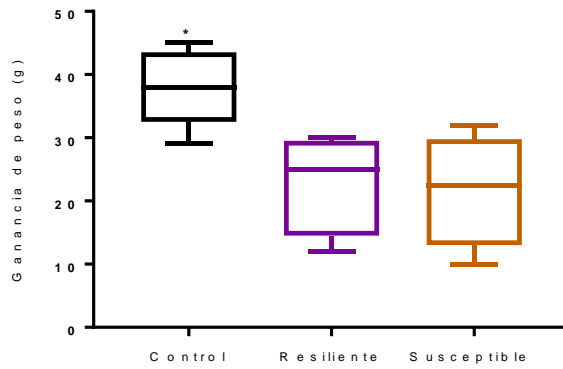
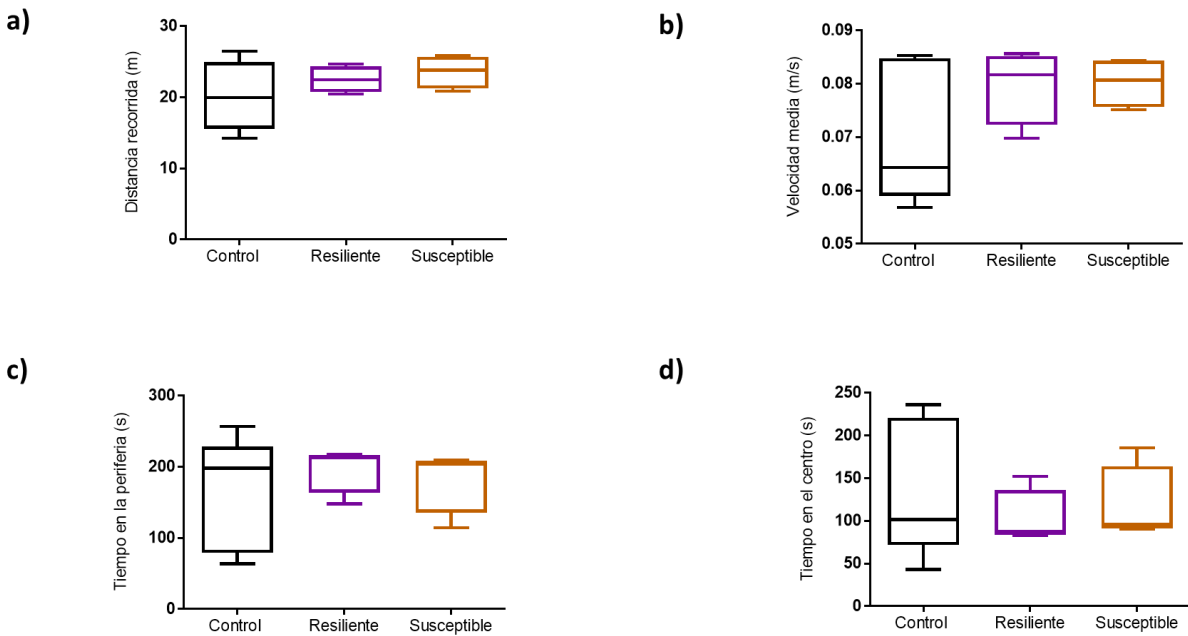


Figura 3. El estrés por derrota social disminuyó la ganancia de peso de las ratas independiente de su fenotipo conductual. Los animales sometidos a estrés por derrota social, tanto susceptibles como resilientes, mostraron una disminución en la ganancia de peso en comparación a los animales del grupo control. El gráfico muestra la masa ganada por animales luego de 7 días de estrés. Los valores se presentan como la media \pm SEM. * $p < 0.05$



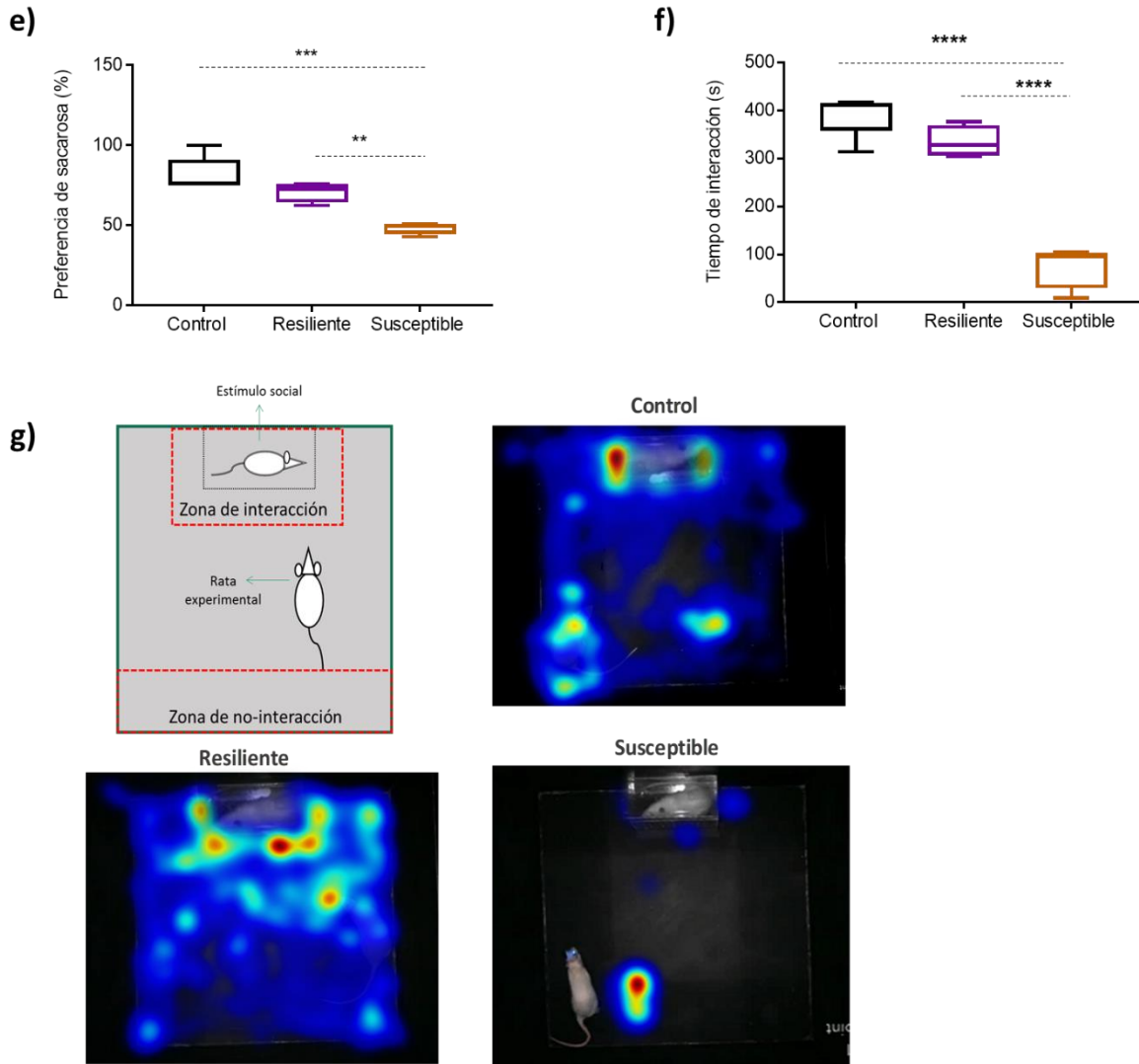


Figura 4. Actividad locomotora y conductas similares a ansiedad y depresión post-estrés por derrota social: a-b) Actividad locomotora en el campo abierto. La distancia recorrida y velocidad media de los animales en el campo abierto fue similar en todos los grupos. c-d) Evaluación de conductas similares a ansiedad en el Test de Campo Abierto. c) Tiempo en la periferia y d) tiempo en el centro. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ninguno de los parámetros estudiados. d-e) Evaluación de conductas similares a depresión en la prueba de preferencia de sacarosa. Solo los animales del grupo susceptible mostraron una disminución significativa de la preferencia de sacarosa en comparación a controles y resilientes. f) Resultados en la prueba de interacción social usada para la clasificación de las ratas. Los animales clasificados como susceptibles mostraron un tiempo en la zona de interacción significativamente más bajo que las resilientes y las controles. g) Mapa de calor representativo del tiempo que los animales de cada grupo permanecían en la zona de interacción. Los valores se presentan como la media \pm SEM. ** $p < 0.01$ y * $p < 0.001$**

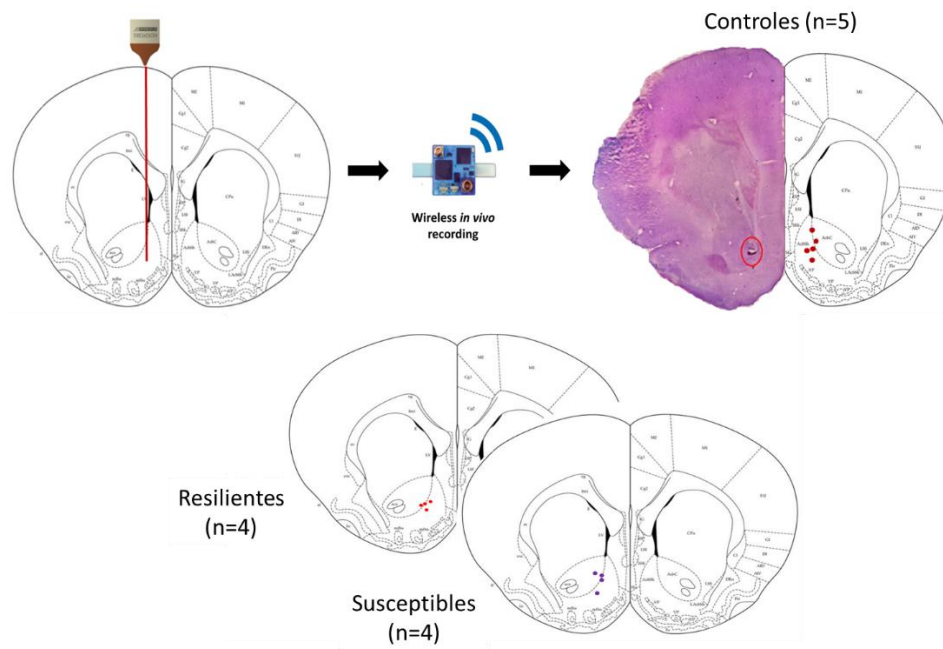
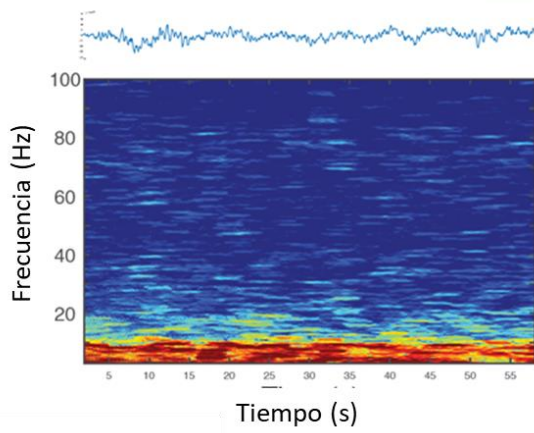
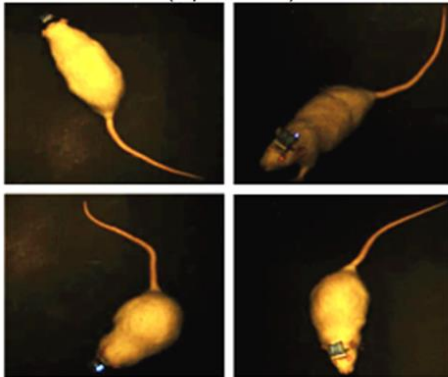


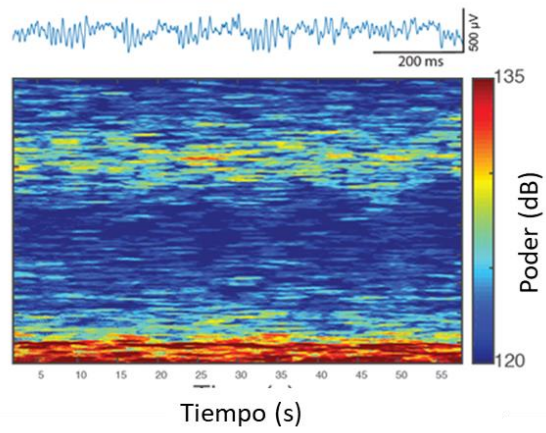
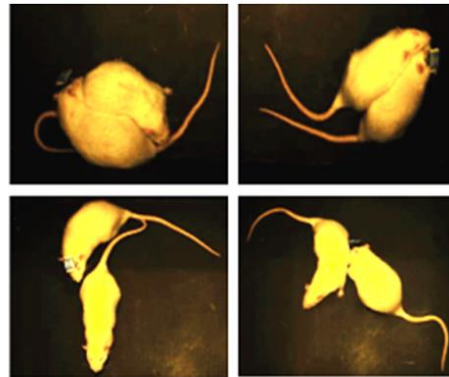
Figura 5. Localización de los electrodos. Verificación de la localización de los electrodos para el grupo control (arriba) y estrés por derrota social (abajo): Cada punto representa las puntas de los electrodos de una rata.

a)

Condición no-social
(Campo abierto)



Condición social
(Interacción social espontánea)



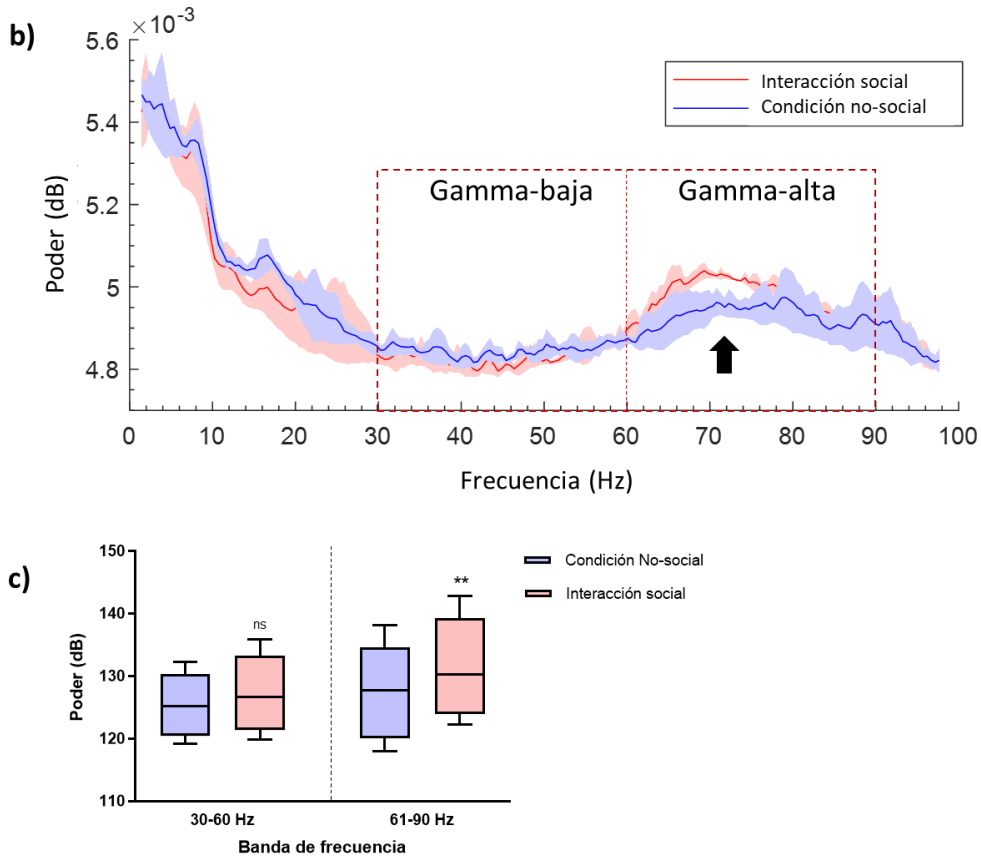


Figura 6. Las oscilaciones gamma en el NAc fueron moduladas por la interacción social. a) (Izquierda) Imágenes representativas de una rata explorando un campo abierto (condición no social) y que luego interactúa socialmente con un conespecífico (derecha). Abajo a la izquierda: trazas representativas de señal de LFP y espectrograma del LFP registrado en el NAc de una rata durante 60 segundos de conducta exploratoria en un campo abierto (condición no social). Abajo a la derecha: trazas representativas de señal de LFP y espectrograma de 60 segundos de interacción social espontánea registrada en la misma rata. La actividad oscilatoria gamma es prominente durante la interacción social espontánea en comparación con la condición no social. **b)** Parte superior: espectros de la mediana del poder del grupo control (línea continua, mediana; área sombreada, percentil 25 a 75) a través de la banda de frecuencia 1-100 que muestra un aumento del poder de gamma-alta (flecha negra) durante la interacción social espontánea (rojo) en comparación a la condición no social/campo abierto (azul). Las bandas de frecuencias correspondientes a gamma-baja y gamma-alta, se encerraron en cuadros punteados color rojo. Parte inferior: poder medio (dB) para ambas condiciones en dos bandas de frecuencia gamma (30-60 Hz o ‘gamma-bajo’, 61-90 Hz o ‘gamma-alto’). Se observaron diferencias significativas entre las dos condiciones, para la banda de frecuencia de 61-90 Hz. *** $p < 0,001$; * $p < 0,05$

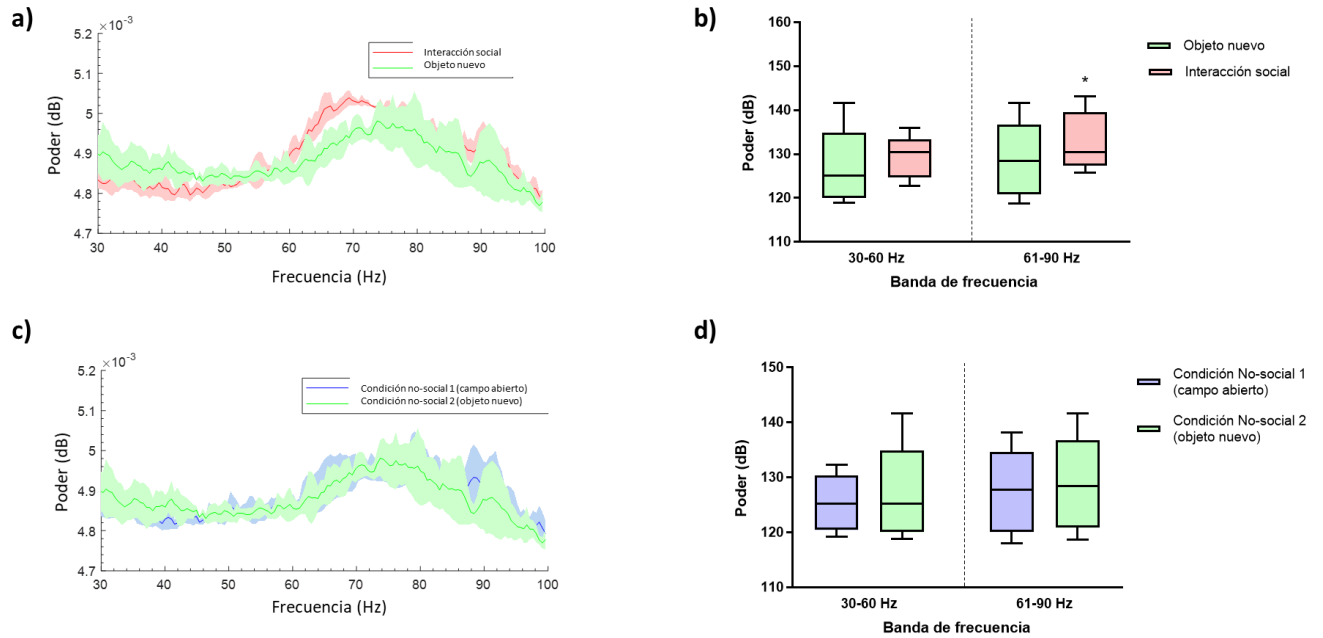


Figura 7. El aumento en el poder de gamma alto no se debió al efecto de la novedad. **a)** Espectros de la mediana del poder del grupo control (línea continua, mediana; área sombreada, percentil 25 a 75) a través de la banda de frecuencia 30-100 Hz que muestra un aumento del poder de las oscilaciones gamma (flecha negra) durante la interacción social espontánea (rojo) en comparación con la condición no social/objeto novedoso (verde). **b)** Media del poder (dB) para ambas condiciones para gamma baja y alta (30-60 Hz y 61-90 Hz, respectivamente). Se observaron diferencias significativas entre las dos condiciones en gamma alto. **c)** Espectros de la mediana del poder del grupo control (línea continua, mediana; área sombreada, percentil 25 a 75) a través de la banda de frecuencia 30-100 Hz que no muestran diferencias entre la condición no social 1 (campo abierto) y la condición no social 2 (objeto novedoso) (línea verde y azul, respectivamente). **d)** Media del poder (dB) de gamma baja y alta para ambas condiciones no sociales. No se observaron diferencias significativas entre ambas condiciones. * $p < 0.05$.

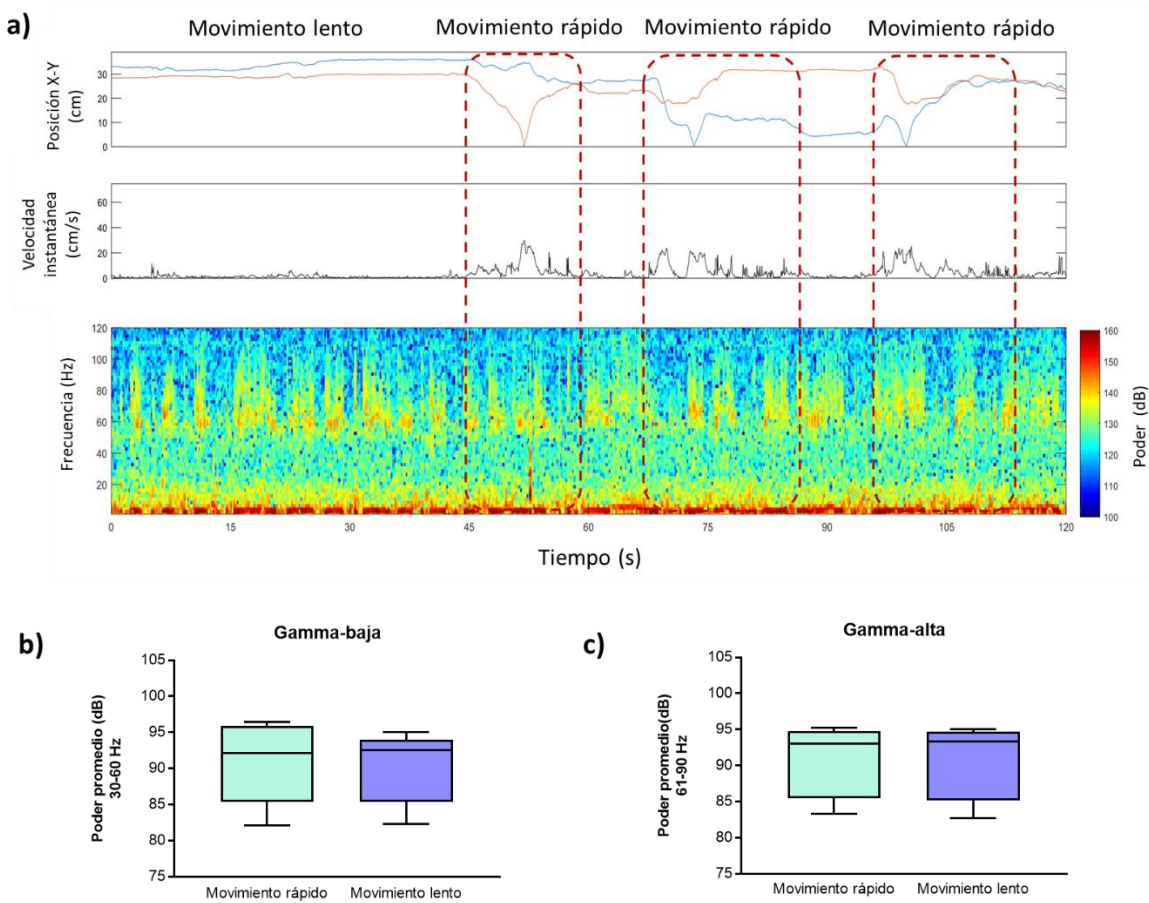


Figura 8. Las oscilaciones gamma en el NAc son independientes de la actividad locomotora. **a)** Espectrograma representativo del LFP registrado en el NAc de una rata interactuando socialmente. Las líneas de puntos rojas indican los eventos en los que el animal mostró una velocidad de dos desviaciones estándar arriba ("movimiento rápido") y por debajo ("movimiento lento") de la media de la locomoción. El primer cuadro representa la posición de la rata en una arena cuadrada y el segundo cuadro representa la velocidad instantánea. **b-c)** Poder promedio (dB) para eventos de movimiento rápido y lento en la banda de frecuencia **b)** gamma-baja (30-60 Hz) y **c)** gamma-alta (61-90 Hz). La prueba t pareada no muestra una diferencia significativa en el poder de gamma entre el movimiento rápido y lento. Los valores se presentan como la media \pm SEM.

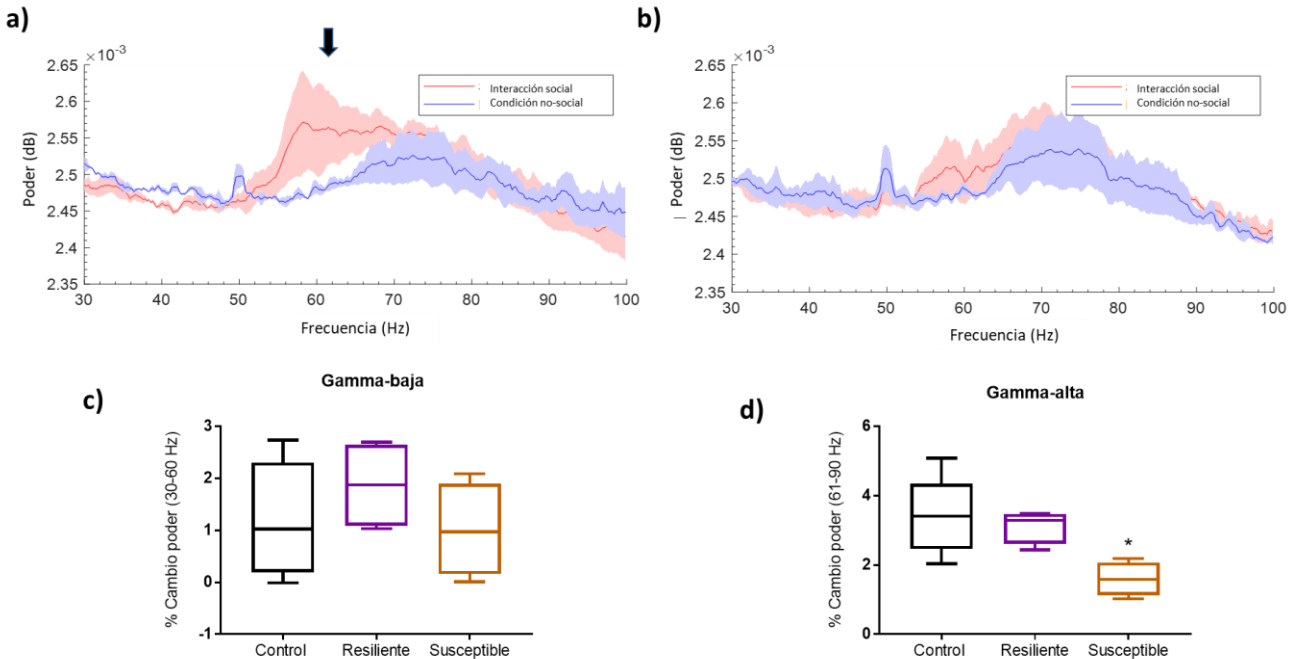


Figura 9. El cambio en el poder de gamma en el NAc entre la condición social y no social, fue menor en las ratas susceptibles en comparación a las resilientes y controles. a-b) Mediana del poder para el grupo a) resiliente y b) susceptible (línea sólida, mediana; área sombrada, percentiles 25–75) de la banda de frecuencias de 30-90 Hz mostrando un incremento del poder de las oscilaciones gamma (flecha negra) durante la interacción social espontánea (rojo) en comparación a la condición no-social/open field (azul). **c-d)** Porcentaje de cambio del poder en c) gamma baja (30-60 Hz), y d) gamma alta (61-90 Hz), en relación a la condición no-social tomada como basal, tanto para el grupo control, resiliente, como susceptible. Los valores se presentan como la media \pm SEM. * $p < 0.05$

El poder de las oscilaciones gamma en el núcleo accumbens de las ratas fue mayor durante la interacción social espontánea en comparación con una condición no social.

Con el propósito de identificar la posible relación entre las oscilaciones del LFP en el NAc y la interacción social, se implantó un arreglo de microelectrodos de 4 canales en el NAc de cinco ratas *Sprague-Dawley* macho y se registró la actividad de LFP *in vivo* en la NAc, usando un sistema de registro inalámbrico, cuando las ratas realizaban interacción social espontáneas con un conspecífico. En esta prueba, las ratas interactuaron continuamente durante 5 minutos (ver Métodos). Para el análisis, se extrajeron los primeros 150 segundos de señal en cada condición. Se encontró que cuando las ratas experimentaron interacciones

sociales, el poder de gamma en el NAc fue mayor en la banda de frecuencia gamma-alta (61-90 Hz), en comparación con la condición no social ($t=6.9$ $df=4$; $P = 0.002$). En gamma-baja, por su lado, no se observaron diferencias significativas del poder entre ambas condiciones. ($t=2.4$ $df=4$; $P = 0.0784$) (Fig.6).

Para excluir el efecto de la novedad como factor de confusión, los animales fueron sometidos a una segunda condición no social, que consistió en explorar un objeto nuevo. Se encontró una diferencia significativa en las oscilaciones gamma entre la interacción social y la exploración del objeto nuevo en la banda de frecuencia de 61-90 Hz ($t=3.705$ $df=4$; $P <0.0208$) (Fig. 2A) y no en la banda de 30-60 Hz ($t=0.5547$ $df=4$; $P <0.6086$). Los animales en ambas condiciones no sociales mostraron poderes similares en las frecuencias 30-60 Hz ($t=0.8679$ $df=4$; $P = 0.4344$) y 61-90 Hz ($t=2.38$ $df=4$; $P = 0.0760$) (Fig.7).

Posteriormente, para evaluar si este aumento en las oscilaciones gamma fue la mera consecuencia de la actividad locomotora, se analizaron offline los eventos en los que el animal aumentó el nivel de movimiento durante la interacción social ('movimiento rápido') versus los eventos cuando el animal se movía lentamente ('movimiento lento') usando registros de video sincronizadas con el tracking de los animales y el análisis automatizado con EthoVision® XT (Noldus, Wageningen, Países Bajos) para medir la velocidad y las coordenadas espaciales de los animales cuando estaban realizando las tareas. Se observó que el poder de las oscilaciones gamma era independiente de la actividad locomotora durante la interacción social tanto en la banda de 30-60 Hz ($t=0.8221$ $df=4$; $P = 0.4572$), como en los 61-90 Hz ($t=0.1122$ $df=4$; $P = 0.9160$) (Fig.8).

Las ratas susceptibles mostraron un menor cambio en el poder de las oscilaciones gamma en la NAc entre la condición social y no social, en comparación con las ratas control y resilientes.

Teniendo en cuenta estos resultados, se evaluó si el aumento en las oscilaciones gamma en el NAc durante la interacción social difería entre las ratas resilientes y aquellas susceptibles al estrés (Fig. 9). Este fue el experimento principal de este estudio y consistió en someter a las ratas *Sprague-Dawley* a un protocolo de estrés por derrota social durante siete días consecutivos.

Luego se clasificó a los animales en resilientes y susceptibles según su tiempo de interacción social en una prueba diferente a la utilizada para los registros electrofisiológicos. Después de esta clasificación, se implantaron ratas resilientes y susceptibles con un arreglo de microelectrodos en el NAc para registrar los LFP *in vivo* durante la condición no social y la interacción social espontánea (Fig. 1). Interesantemente, se observaron diferencias significativas entre los grupos control, resiliente y susceptible en el porcentaje de cambio del poder de gamma-alta (61-90 Hz) que fue inducido por la interacción social espontánea ($F(2, 10) = 6.2; P = 0.017$) y las comparaciones múltiples arrojaron diferencias específicas del grupo susceptible en relación a los grupos resiliente y control (control vs. susceptible $P = 0.021$ y resiliente vs. susceptible $P = 0.045$). Por otro lado, los grupos control y resiliente mostraron porcentajes de cambio similares en el poder de gamma-alta durante la interacción social ($P = 0.609$) (Fig. 9).

DISCUSIÓN

El aspecto innovador de esta investigación fue el uso de una tecnología que permitió integrar una evaluación del comportamiento ecológico de la interacción social con los registros *in vivo* de las oscilaciones de LFP en el NAc de ratas que eran susceptibles y resilientes al estrés por derrota social.

De la presente tesis, se destacan dos hallazgos relevantes: el primero de ellos dice relación con el correlato electrofisiológico de la interacción social en un área esencial para el procesamiento de la recompensa como es el NAc. Si bien, ya había cierta evidencia de la participación del NAc en los comportamientos sociales (5,6), hasta la fecha se desconocía que la interacción social se correlacionara con el aumento del poder de gamma-alta (61-90 Hz, en el presente estudio) en el NAc, lo que apunta a una posible modulación de la interacción social a partir de las oscilaciones gamma en esa región cerebral específica (Fig. 6). En contraste, el poder de gamma-alta en el NAc no dependió de la interacción social en aquellas ratas que eran susceptibles al estrés por derrota social (Fig. 9).

Cabe destacar que el origen de las oscilaciones gamma en el NAc podría ser teóricamente atribuido a diferentes factores, entre ellos, a los inputs sinápticos que vienen desde áreas aferentes como el hipocampo, la amígdala, la corteza prefrontal y el tálamo (51,52). También a los potenciales locales intrínsecos de membrana y actividad multiunitaria de spikes (19), o bien, a las corrientes sinápticas resultantes de proyecciones locales dentro del estriado, principalmente entre interneuronas de disparo rápido (FSI) parvalbúmina positivas y MSN del NAc. En relación a esto último, se ha descrito que en el estriado el acoplamiento a ritmos gamma es selectivo para las FSI (17), las cuales han sido teóricamente vinculadas a la generación de oscilaciones en esta banda de frecuencia (53).

De acuerdo a lo anterior, una posible explicación sería que, en condiciones normales, el aumento del neurotransmisor dopamina (DA) durante la interacción social, excitaría a las FSI directamente mediante la despolarización mediada por los receptores tipo D1, o bien, de forma indirecta, reduciendo su inhibición sináptica a través de receptores tipo D2 presinápticos (54). Esto aumentaría la actividad inhibitoria de las

FSI sobre las MSN, lo cual generaría oscilaciones en frecuencia gamma (Fig. 10 a). Por lo tanto, en el caso de las ratas susceptibles, se propone que existiría 1) una disminución de los niveles normales de dopamina en el NAc producto del estrés crónico por derrota social, lo cual lleva a 2) una disminución de la actividad de las FSI, que genera 3) la alteración del circuito local inhibitorio entre las FSI y las MSN y conlleva a 4) la disminución de las oscilaciones gamma en el NAc (53) durante la interacción social (Fig. 10 b)

Analizando cada aspecto de esta hipótesis explicativa, en primer lugar tenemos la posible disminución de los niveles de dopamina producto del estrés crónico. Si bien esto no fue medido en el presente estudio, este fenómeno ya ha sido previamente estudiado, por lo que existe evidencia de que el estrés crónico conlleva una disminución de los niveles de dopamina (41), lo que se relaciona con la alteración del procesamiento de recompensa asociada a la sintomatología depresiva. La disminución de los niveles de dopamina en el NAc en las ratas susceptibles durante la interacción social, es consecuente además con los resultados obtenidos en la prueba de preferencia de sacarosa, que es una medida clásica de conducta similar a anhedonia en roedores (Fig. 4e). Allí se observó que las ratas susceptibles tenían una disminuida preferencia por el líquido dulce, mientras que los animales resilientes no mostraron diferencias respecto a los controles. Esto es especialmente interesante, tomando en cuenta que este fenómeno no podría ser atribuido a que los animales resilientes estaban menos estresados que los susceptibles, pues en ambos casos, los marcadores fisiológicos de estrés se mostraron evidentemente alterados, como lo indicó la disminuida ganancia de peso corporal (Fig. 3). Si bien no se profundizó en el presente estudio, es probable que los niveles de dopamina en las ratas resilientes durante la interacción social, se hayan mantenido normales, lo cual les permitió seguir experimentando como placentera la interacción social y no disminuyó su conducta de aproximación, como sí ocurrió en las ratas susceptibles. Este es un fenómeno que debe seguir siendo investigando en futuros estudios.

De acuerdo a esto, la disminución de los niveles de dopamina en el NAc, podría estar generando una disminución de la actividad de las FSI. Al respecto, existe evidencia de que la dopamina endógena ejerce una doble acción excitadora sobre las FSI en el estriado, despolarizándolas directamente (a través de los

receptores tipo D1) y reduciendo su inhibición sináptica (a través de los receptores tipo D2 presinápticos) (54), por lo que el descenso de los niveles de dopamina en el NAc, afectaría este balance y conllevaría a una menor excitación de las FSI.

Se sabe que las FSI inhiben poderosamente a las neuronas de proyección, las cuales no parecen inhibirse entre sí de manera significativa (55). Por lo tanto, las FSI (56) son probablemente las principales neuronas responsables de la inhibición GABAérgica del estriado; esto limita fuertemente el output estriatal (57). Aunque las FSI constituyen solo el 1–2% de las neuronas en el NAc, éstas proporcionan una poderosa inhibición feedforward que controla el disparo de las MSN (58). Se hace evidente entonces que, al excitar las FSI y al reducir su inhibición sináptica, los aferentes dopaminérgicos pueden ejercer una influencia inhibitoria importante en el estriado. En particular, la dopamina puede regular críticamente la inhibición feedforward que es una característica principal de la comunicación córtico-estriada (56).

Finalmente, la alteración de este circuito inhibitorio, estaría generando la disminución de las oscilaciones gamma en el NAc, de acuerdo a un modelo de “inhibición-inhibición” (53) en donde las oscilaciones gamma pueden ser generadas por una red inhibitoria conectada recíprocamente, en la cual las FSI inhiben a las MSN (59). Esto podría estar conduciendo a una falla en la integración en el NAc de la información cortical (59), probablemente de inputs provenientes de la corteza prefrontal, una región cerebral involucrada en la conducta social, según evidencia reciente (5).

En relación a lo anterior, algunos autores se refieren al NAc como una ‘central conmutadora de señales’ (60–62). Esta propuesta implica que más que un simple receptor pasivo de señales entrantes provenientes de aferencias, el NAc tiene un mecanismo para el intercambio entre dichas señales. En tal escenario de intercambio, el NAc sería capaz de ‘seleccionar’ un input dominante. Esto sugiere, por ejemplo, que durante la actividad oscilatoria gamma-alta el NAc, las otras áreas que también exhiben tal actividad, como la corteza prefrontal, podrían estar funcionalmente sincronizadas con el NAc y en control de su influencia sobre la conducta, mientras que durante gamma-baja, la corteza piriforme o la amígdala (que también presentan oscilaciones en esta banda de frecuencia) estarían controlando el output del NAc (19). No

obstante, sería el NAc el que ejercería el rol de seleccionar e intercambiar el paso de una fuente de señales a otra. En este sentido, la indemnidad de todo el circuito determinará la normalidad de la conducta social.

En conclusión, de manera similar a estudios anteriores que mostraron que las oscilaciones gamma en el NAc están asociadas con el procesamiento de recompensas naturales, como la ingesta de alimentos, o recompensas sintéticas, como el uso de drogas (15–18), estos resultados sugieren que las oscilaciones gamma podrían involucrarse también en el efecto gratificante generado por la presencia de un conoespecífico, así como en la interacción social con él. Las alteraciones en este dominio parecen estar involucradas en la etiología de los trastornos neuropsiquiátricos relacionados con el estrés, como la depresión mayor y los trastornos de ansiedad.

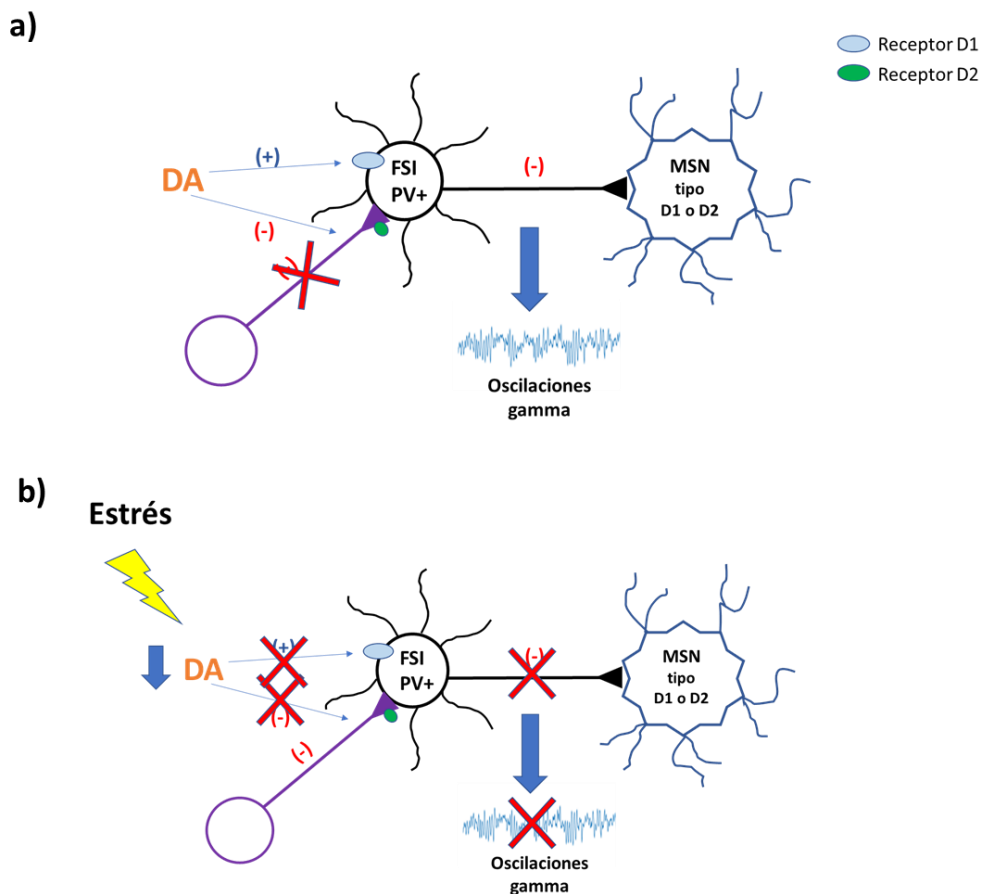


Figura 10. Posible mecanismo explicativo. Esquema representativo del posible mecanismo que explicaría la alteración en las oscilaciones gamma observada en los animales susceptibles. **a)** En condiciones normales, el aumento del neurotransmisor dopamina (DA) durante la interacción social, excitaría a las FSI directamente mediante la

despolarización mediada por los receptores tipo D1, o bien, de forma indirecta, reduciendo su inhibición sináptica a través de receptores tipo D2 presinápticos. Esto aumentaría la actividad inhibitoria de las FSI sobre las MSN, lo cual generaría oscilaciones en frecuencia gamma. **b)** En el caso de las ratas susceptibles, se propone que existiría una disminución de los niveles normales de dopamina en el NAc producto del estrés crónico por derrota social, lo cual lleva a una disminución de la actividad de las FSI, que genera la alteración del circuito local inhibitorio entre las FSIs y las MSNs y conlleva a la disminución de las oscilaciones gamma en el NAc durante la interacción social.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alexander RD. The Evolution of Social Behavior. *Annu Rev Ecol Syst.* 1974 Nov;5(1):325–383.
2. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2013.
3. Admon R, Pizzagalli DA. Dysfunctional reward processing in depression. *Curr Opin Psychol.* 2015 Aug 1;4:114–118.
4. Dölen G, Darvishzadeh A, Huang KW, Malenka RC. Social reward requires coordinated activity of nucleus accumbens oxytocin and serotonin. *Nature.* 2013 Sep 12;501(7466):179–184.
5. Alkire D, Levitas D, Warnell KR, Redcay E. Social interaction recruits mentalizing and reward systems in middle childhood. *Hum Brain Mapp.* 2018 Oct;39(10):3928–3942.
6. Warnell KR, Sadikova E, Redcay E. Let's chat: developmental neural bases of social motivation during real-time peer interaction. *Dev Sci.* 2018 May;21(3):e12581.
7. Kummer KK, El Rawas R, Kress M, Saria A, Zernig G. Social interaction and cocaine conditioning in mice increase spontaneous spike frequency in the nucleus accumbens or septal nuclei as revealed by multielectrode array recordings. *Pharmacology.* 2015 Jan 14;95(1-2):42–49.
8. Pizzagalli DA, Holmes AJ, Dillon DG, Goetz EL, Birk JL, Bogdan R, et al. Reduced caudate and nucleus accumbens response to rewards in unmedicated individuals with major depressive disorder. *Am J Psychiatry.* 2009 Jun;166(6):702–710.
9. Misaki M, Suzuki H, Savitz J, Drevets WC, Bodurka J. Individual Variations in Nucleus Accumbens Responses Associated with Major Depressive Disorder Symptoms. *Sci Rep.* 2016 Feb 16;6:21227.
10. Schlaepfer TE, Cohen MX, Frick C, Kosel M, Brodesser D, Axmacher N, et al. Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression. *Neuropsychopharmacology.* 2008 Jan;33(2):368–377.
11. Nauczyciel C, Robic S, Dondaine T, Verin M, Robert G, Drapier D, et al. The nucleus accumbens: a target for deep brain stimulation in resistant major depressive disorder. *J Mol Psychiatry.* 2013 Oct 23;1:17.
12. Bosman CA, Lansink CS, Pennartz CMA. Functions of gamma-band synchronization in cognition: from single circuits to functional diversity across cortical and subcortical systems. *Eur J Neurosci.* 2014 Jun;39(11):1982–1999.
13. Herrmann CS, Demiralp T. Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. *Clin Neurophysiol.* 2005 Dec;116(12):2719–2733.
14. Uhlhaas PJ, Singer W. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nat Rev Neurosci.* 2010 Feb;11(2):100–113.
15. Cohen MX, Axmacher N, Lenartz D, Elger CE, Sturm V, Schlaepfer TE. Good vibrations: cross-frequency coupling in the human nucleus accumbens during reward processing. *J Cogn Neurosci.* 2009 May;21(5):875–889.
16. Lega BC, Kahana MJ, Jaggi J, Baltuch GH, Zaghloul K. Neuronal and oscillatory activity during reward processing in the human ventral striatum. *Neuroreport.* 2011 Nov 16;22(16):795–800.
17. Berke JD. Fast oscillations in cortical-striatal networks switch frequency following rewarding events and stimulant drugs. *Eur J Neurosci.* 2009 Sep;30(5):848–859.

18. van der Meer MAA, Redish AD. Low and High Gamma Oscillations in Rat Ventral Striatum have Distinct Relationships to Behavior, Reward, and Spiking Activity on a Learned Spatial Decision Task. *Front Integr Neurosci*. 2009 Jun 11;3:9.
19. van der Meer MAA. Integrating early results on ventral striatal gamma oscillations in the rat. *Front Neurosci*. 2010 Sep;4.
20. Monroe SM, Slavich GM, Georgiades K. The social environment and depression: The roles of life stress. 2014;
21. Pizzagalli DA. Depression, stress, and anhedonia: toward a synthesis and integrated model. *Annu Rev Clin Psychol*. 2014;10:393–423.
22. Berenbaum H, Connelly J. The effect of stress on hedonic capacity. *J Abnorm Psychol*. 1993 Aug;102(3):474–481.
23. Charney DS, Manji HK. Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. *Sci STKE*. 2004 Mar 16;2004(225):re5.
24. Der-Avakian A, Mazei-Robison MS, Kesby JP, Nestler EJ, Markou A. Enduring deficits in brain reward function after chronic social defeat in rats: susceptibility, resilience, and antidepressant response. *Biol Psychiatry*. 2014 Oct 1;76(7):542–549.
25. Donahue RJ, Muschamp JW, Russo SJ, Nestler EJ, Carlezon WA. Effects of striatal Δ FosB overexpression and ketamine on social defeat stress-induced anhedonia in mice. *Biol Psychiatry*. 2014 Oct 1;76(7):550–558.
26. Bogdan R, Perlis RH, Fagerness J, Pizzagalli DA. The impact of mineralocorticoid receptor ISO/VAL genotype (rs5522) and stress on reward learning. *Genes Brain Behav*. 2010 Aug;9(6):658–667.
27. Bogdan R, Pizzagalli DA. Acute stress reduces reward responsiveness: implications for depression. *Biol Psychiatry*. 2006 Nov 15;60(10):1147–1154.
28. Bogdan R, Santesso DL, Fagerness J, Perlis RH, Pizzagalli DA. Corticotropin-releasing hormone receptor type 1 (CRHR1) genetic variation and stress interact to influence reward learning. *J Neurosci*. 2011 Sep 14;31(37):13246–13254.
29. Pizzagalli DA, Bogdan R, Ratner KG, Jahn AL. Increased perceived stress is associated with blunted hedonic capacity: potential implications for depression research. *Behav Res Ther*. 2007 Nov;45(11):2742–2753.
30. Der-Avakian A, D’Souza MS, Potter DN, Chartoff EH, Carlezon WA, Pizzagalli DA, et al. Social defeat disrupts reward learning and potentiates striatal nociceptin/orphanin FQ mRNA in rats. *Psychopharmacology*. 2017 May;234(9-10):1603–1614.
31. Hammels C, Pishva E, De Vry J, van den Hove DLA, Prickaerts J, van Winkel R, et al. Defeat stress in rodents: From behavior to molecules. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015 Dec;59:111–140.
32. Berton O, McClung CA, Dileone RJ, Krishnan V, Renthal W, Russo SJ, et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science*. 2006 Feb 10;311(5762):864–868.
33. Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci*. 2006 Apr;9(4):519–525.
34. Krishnan V, Han M-H, Graham DL, Berton O, Renthal W, Russo SJ, et al. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell*. 2007 Oct 19;131(2):391–404.
35. Yehuda R. Risk and resilience in posttraumatic stress disorder. *J Clin Psychiatry*. 2004;65 Suppl 1:29–36.

36. Francis TC, Chandra R, Friend DM, Finkel E, Dayrit G, Miranda J, et al. Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress. *Biol Psychiatry*. 2015 Feb 1;77(3):212–222.
37. Christoffel DJ, Golden SA, Dumitriu D, Robison AJ, Janssen WG, Ahn HF, et al. I κ B kinase regulates social defeat stress-induced synaptic and behavioral plasticity. *J Neurosci*. 2011 Jan 5;31(1):314–321.
38. Larrieu T, Cherix A, Duque A, Rodrigues J, Lei H, Gruetter R, et al. Hierarchical status predicts behavioral vulnerability and nucleus accumbens metabolic profile following chronic social defeat stress. *Curr Biol*. 2017 Jul 24;27(14):2202–2210.e4.
39. Muir J, Lorsch ZS, Ramakrishnan C, Deisseroth K, Nestler EJ, Calipari ES, et al. In vivo fiber photometry reveals signature of future stress susceptibility in nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*. 2018 Jan;43(2):255–263.
40. Hamilton PJ, Burek DJ, Lombroso SI, Neve RL, Robison AJ, Nestler EJ, et al. Cell-Type-Specific Epigenetic Editing at the Fosb Gene Controls Susceptibility to Social Defeat Stress. *Neuropsychopharmacology*. 2018 Jan;43(2):272–284.
41. Lehner MH, Karas-Ruszczak K, Zakrzewska A, Gryz M, Wislowska-Stanek A, Kolosowska K, et al. Chronic stress changes prepulse inhibition after amphetamine challenge: the role of the dopaminergic system. *J Physiol Pharmacol*. 2018 Jun;69(3).
42. Insel T, Cuthbert B, Garvey M, Heinssen R, Pine DS, Quinn K, et al. Research domain criteria (RDoC): toward a new classification framework for research on mental disorders. *Am J Psychiatry*. 2010 Jul;167(7):748–751.
43. Blokland A, Prickaerts J, van Duinen M, Sambeth A. The use of EEG parameters as predictors of drug effects on cognition. *Eur J Pharmacol*. 2015 Jul 15;759:163–168.
44. NIMH » Strategic Research Priorities Overview [Internet]. [cited 2018 Aug 28]. Available from: <https://www.nimh.nih.gov/about/strategic-planning-reports/strategic-research-priorities/index.shtml>
45. Miczek KA. Chronic delta9-tetrahydrocannabinol in rats: effect on social interactions, mouse killing, motor activity, consummatory behavior, and body temperature. *Psychopharmacology*. 1979 Jan 31;60(2):137–146.
46. Paxinos C, Watson G. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 6th ed. Academic Press, Elsevier; 2007.
47. Delorme A, Makeig S. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *J Neurosci Methods*. 2004 Mar 15;134(1):9–21.
48. Bokil H, Andrews P, Kulkarni JE, Mehta S, Mitra PP. Chronux: a platform for analyzing neural signals. *J Neurosci Methods*. 2010 Sep 30;192(1):146–151.
49. Fitts DA. Improved stopping rules for the design of efficient small-sample experiments in biomedical and biobehavioral research. *Behav Res Methods*. 2010 Feb;42(1):3–22.
50. Karalis N, Dejean C, Chaudun F, Khoder S, Rozeske RR, Wurtz H, et al. 4-Hz oscillations synchronize prefrontal-amygdala circuits during fear behavior. *Nat Neurosci*. 2016 Apr;19(4):605–612.
51. Colgin LL, Denninger T, Fyhn M, Hafting T, Bonnevie T, Jensen O, et al. Frequency of gamma oscillations routes flow of information in the hippocampus. *Nature*. 2009 Nov 19;462(7271):353–357.
52. Popescu AT, Popa D, Paré D. Coherent gamma oscillations couple the amygdala and striatum during learning. *Nat Neurosci*. 2009 Jun;12(6):801–807.
53. Buzsáki G, Wang X-J. Mechanisms of gamma oscillations. *Annu Rev Neurosci*. 2012 Mar 20;35:203–225.

54. Bracci E, Centonze D, Bernardi G, Calabresi P. Dopamine excites fast-spiking interneurons in the striatum. *J Neurophysiol.* 2002 Apr;87(4):2190–2194.
55. Jaeger D, Kita H, Wilson CJ. Surround inhibition among projection neurons is weak or nonexistent in the rat neostriatum. *J Neurophysiol.* 1994 Nov;72(5):2555–2558.
56. Koós T, Tepper JM. Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nat Neurosci.* 1999 May;2(5):467–472.
57. Nisenbaum ES, Berger TW. Functionally distinct subpopulations of striatal neurons are differentially regulated by GABAergic and dopaminergic inputs--I. In vivo analysis. *Neuroscience.* 1992;48(3):561–578.
58. Warren BL, Whitaker LR. Parvalbumin-Expressing Neurons in the Nucleus Accumbens: A New Player in Amphetamine Sensitization and Reward. *Neuropsychopharmacology.* 2018 Apr;43(5):929–930.
59. Mallet N, Le Moine C, Charpier S, Gonon F. Feedforward inhibition of projection neurons by fast-spiking GABA interneurons in the rat striatum in vivo. *J Neurosci.* 2005 Apr 13;25(15):3857–3869.
60. Redgrave P, Prescott TJ, Gurney K. The basal ganglia: a vertebrate solution to the selection problem? *Neuroscience.* 1999;89(4):1009–1023.
61. Goto Y, Grace AA. Limbic and cortical information processing in the nucleus accumbens. *Trends Neurosci.* 2008 Nov;31(11):552–558.
62. Gruber AJ, Hussain RJ, O'Donnell P. The nucleus accumbens: a switchboard for goal-directed behaviors. *PLoS One.* 2009 Apr 7;4(4):e5062.