



ESTUDIO SOBRE LA MEMORIA DE MIEDO SOCIAL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

VALENTINA BELÉN GAETE PAREDES

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE MEDICINA

PROFESOR GUÍA

PROF. DR. ALEXIES DAGNINO SUBIABRE

PROFESORA CO-GUÍA

PROF. PS. MSC. IRINA GALLI GONZÁLEZ

**SEMINARIO DE TÍTULO PSICOLOGÍA CLÍNICA PRESENTADO A LA ESCUELA
DE PSICOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO, COMO REQUISITO
PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE PSICÓLOGO.**

DICIEMBRE, 2017

VALPARAÍSO, CHILE.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mis padres y hermano por su apoyo incondicional.

*Agradezco al Dr. Alexies Dagnino por haberme permitido
desarrollar mi trabajo de título en el laboratorio de
Neurobiología del Stress y por sus valiosos aportes
y guía durante mi investigación.*

*Gracias a la profesora Ps. Irina Galli por su apoyo y
contribución durante el desarrollo de este trabajo.*

*Gracias a cada estudiante del laboratorio que me brindó
su orientación y colaboración durante mi investigación, en especial
a la Ps. Ann Iturra quien fue un pilar fundamental durante mi trabajo de título.*

*Gracias a mi escuela de psicología por dar las facilidades para realizar
mi trabajo de título en el laboratorio de Neurobiología del Stress.*

ÍNDICE

TABLA DE ABREVIATURAS	5
RESUMEN	6
MARCO TEÓRICO	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	43
FINANCIAMIENTO	44
REFERENCIAS	45

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1	14
TABLA N°2	15

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA A	17
FIGURA B	18
FIGURA 1	22
FIGURA 2	23
FIGURA 3	23
FIGURA 4	24
FIGURA 5	25
FIGURA 6	25
FIGURA 7	26
FIGURA 8	26
FIGURA 9	27
FIGURA 10	28
FIGURA 11	29
FIGURA 12	29
FIGURA 13	30
FIGURA 14	31
FIGURA 15	31
FIGURA 16	32
FIGURA 17	32
FIGURA 18	33
FIGURA 19	33
FIGURA 20	34
FIGURA 21	34

TABLA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURAS	
SAN	Sistema nervioso simpático adrenomedular
L- HPA	Eje Límbico Hipotalámico-Pituitario-Adrenal
AR	Adrenalina
NA	Noradrenalina
PVN	Núcleo paraventricular
CRF	Corticotropina
ACTH	Adrenocorticotropina
MR	Receptores mineralocorticoides
GRs	Receptores glucocorticoides
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
RC	Respuestas condicionada
BLA	Amígdala Basolateral
NIH	National Institutes of Health
CPF	Corteza Prefrontal

RESUMEN

En general, los mamíferos son animales sociables y los estresores que más los afectan son los de tipo social. Sin embargo, la mayoría de los modelos animales que se usan actualmente para estudiar las bases neurobiológicas del estrés utilizan estresores físicos. En esta tesis se estudió si la experiencia del estrés social se consolida y extingue como una memoria clásica de miedo. Se utilizaron ratas machos *Sprague Dawley* adultos los cuales fueron divididos en un grupo control y otro estrés, estos últimos fueron sometidos al paradigma de estrés crónico por derrota social. Se evaluó en todos los animales la actividad locomotora a través de la prueba de campo abierto, el miedo condicionado al contexto de la derrota social a través del comportamiento de freezing o congelamiento, y finalmente se evaluó la interacción social. Los animales que fueron sometidos al estrés crónico por derrota social presentaron un aumento del tiempo y latencia de freezing, así como una disminución significativa de la interacción social respecto a los animales controles. Estos resultados sugieren que la experiencia de la derrota social se consolida en el cerebro como una memoria de miedo social en las ratas intrusas, esta memoria de miedo social se comporta en el tiempo como una memoria clásica de miedo condicionado. Finalmente, en esta tesis se desarrolló un nuevo modelo para estudiar las bases neurobiológicas del miedo en un contexto de estrés por derrota social, mucho más cercano a la realidad que viven en general los humanos. Sin duda este modelo animal servirá para comprender mejor el origen de los trastornos mentales relacionadas con el estrés.

MARCO TEÓRICO

Estrés

Cuando los animales y seres humanos se ven enfrentados a eventos o estímulos aversivos y potencialmente letales, activan respuestas defensivas adaptativas que les permiten responder a ellos (Maren, 2017). Codificar dichos eventos, permite anticiparlos y responder de manera adaptativa (McGaugh, 1966). Tales estímulos -físicos y/o psicológicos-, son denominados estresores y desafían constantemente el equilibrio interno de un organismo, conocido como homeostasis (Dagnino, 2012). En este contexto, el estrés o “síndrome general de adaptación” definido por Hans Selye en 1936 (Selye, 1936), tiene como objetivo restaurar la homeostasis de un organismo. Por lo tanto, el estrés es una respuesta biológica inespecífica de un organismo a cualquier estresor del ambiente (Tafet & Bernardini, 2003). De esta manera, para reanudar la homeostasis, el estrés reacciona con un conjunto de respuestas que permiten al organismo adaptarse y responder antes los estresores (Dagnino, 2013).

Los estresores conducen a la activación de la respuesta adaptativa al estrés, cuyos componentes principales de la respuesta son el sistema nervioso simpático adrenomedular (SAN) y en paralelo, el eje Límbico-Hipotalámico-Pituitario-Adrenal (L-HPA). El sistema SAN implica la biosíntesis y la liberación de adrenalina (AR) y noradrenalina (NA). Esta respuesta inicial provoca hipervigilancia y con respecto a la memoria, conduce a una mejor codificación de las características relevantes del entorno (Wolf, 2017).

En paralelo, el eje HPA involucra estructuras límbicas, como la amígdala y el hipocampo. Al respecto, la activación del eje HPA implica la estimulación de un grupo específico de neuronas localizadas en la subdivisión parvocelular dorsomedial del núcleo paraventricular

(PVN) del hipotálamo (Aguilera, 2012). Estas neuronas sintetizan el factor liberadora de corticotropina (CRF), que se libera a la pituitaria. Allí, CRF estimula la liberación de adrenocorticotropina (ACTH) en el torrente sanguíneo. Luego, ACTH estimula la biosíntesis y la liberación de glucocorticoides por las células de la corteza suprarrenal, cortisol en los seres humanos y corticosterona en roedores (Tafet & Bernardini, 2003). Dichos glucocorticoides se unen a receptores de mineralocorticoides (MR) y receptores de glucocorticoides (GRs), los cuales al dimerizarse activan la expresión de varios genes que regulan la fisiología y los comportamientos de la respuesta al estrés (Tafet & Bernardini, 2003). Estos receptores difieren en su localización y afinidad, los MR se expresan preferentemente en regiones límbicas como el hipocampo y la amígdala central y los GRs se expresan más ampliamente en el cerebro (Wolf, 2017). La activación de GRs se ha vinculado a procesos cognitivos, como la consolidación de la memoria, mientras que los efectos mediados por MR se han asociado con la evaluación y la capacidad de respuesta a las experiencias estresantes y con el control de retroalimentación negativa del eje HPA (de Quervain, Schwabe, & Roozendaal, 2017).

Conforme lo anterior, la respuesta al estrés comprende una serie de respuestas fisiológicas y conductuales, que le permiten al organismo escapar o enfrentar a los estresores. Dentro de las respuestas conductuales, encontramos peleas, evitación, freezing (congelación), entre otros (Toth & Neumann, 2013).

Modelos animales de estrés social y no social

El estrés se clasifica en Eustrés o estrés positivo y Distrés o estrés negativo, dependiendo de la adaptación del organismo (Dagnino, 2012). La primera clasificación refiere a estresores desafiantes que son controlables, por lo tanto, el organismo puede responder de manera

satisfactoria a dichos estresores y adaptarse a ellos. Mientras que el estrés negativo, refiere a estresores que a menudo son incontrolables, emocional y físicamente agotadores, por los que el organismo no puede adaptarse a ellos (McEwen, 2007). Si los estresores son prolongados en el tiempo se denomina estrés crónico (Tafet & Bernardini, 2003).

Los modelos de estrés en animales de experimentación se han utilizado durante años para examinar los mecanismos conductuales y fisiológicos que conllevan a enfermedades causadas por la exposición al estrés. A menudo sucede que el paradigma de estrés utilizado en laboratorios guarda poca similitud con las condiciones naturales bajo las cuales se desarrollan enfermedades o trastornos relacionados con el estrés psicológico y/o social (Tamashiro, Nguyen, & Sakai, 2005). Paradigmas de estrés que utilizan estresores físicos, no sociales, como la restricción de movimiento se emplean comúnmente para generar estrés o condicionar respuestas. Sin embargo, estos estresores no se asemejan a los desafíos que normalmente enfrentan los animales en su entorno natural y pueden provocar respuestas conductuales y fisiológicas distintas de las derivadas de los problemas sociales y/o factores estresantes psicológicos (Tamashiro et al., 2005). En este contexto, utilizar paradigmas de estrés con estresores psicológicos y/o sociales tendría una ventaja sobre los modelos animales que requieren estresores físicos aversivos. Ello, porque los estresores más comunes en los seres humanos son de naturaleza psicológica y/o social (Rygula et al., 2005).

Estresores y memoria de miedo

Estresores físicos que se utilizan en el condicionamiento Pavloviano, han sido clásicamente utilizado para estudiar el aprendizaje del miedo en roedores. Durante el condicionamiento del miedo, un estímulo inofensivo como un tono, luz o contexto (estímulo

condicionado [EC]), se asocia a una respuesta aversiva como choque eléctrico (estímulo incondicionado [EI]). Esta asociación genera en el animal respuestas condicionada (RC) defensivas como la conducta estándar de miedo: *freezing* (congelación), inmovilidad causada por una respuesta tónica generalizada de la musculatura esquelética de los animales, excepto los músculos utilizados en la respiración (Takahashi et al., 2006; Izquierdo, Furini, & Myskiw, 2016). De esta manera los animales, rápidamente aprenden a discriminar EC que predice el EI, de aquellos que no (Izquierdo et al., 2016). Estudios que han investigado las estructuras que están implicadas en el condicionamiento al miedo han destacado la amígdala basolateral (BLA) como la estructura donde se procesa el paramiento entre EC-EI y que modula la plasticidad del hipocampo y el crecimiento dendrítico. El hipocampo es partícipe en la detección del miedo contextual (Izquierdo et al., 2016). Tanto la amígdala como el hipocampo, se comunican con la corteza prefrontal (CPF) para transmitir información sensorial y reciben de ella un feedback. De esta manera, la adquisición y consolidación del miedo condicionado dependen de estructuras como el hipocampo, amígdala y CPF (Izquierdo et al., 2016; LeDoux, 2000).

El miedo, es considerado como un estado consciente que involucra componentes tanto asociativos como no asociativos, causados por la exposición a amenazas reales o imaginarias (Izquierdo et al., 2016), siendo fundamental para la supervivencia. En este contexto, el estrés mejora el aprendizaje del miedo (Izquierdo et al., 2016).

Una disminución en la interacción social, refleja evitación social y, por tanto, sugiere miedo social (Toth & Neumann, 2013). De esta manera, el miedo social se evalúa según la cantidad de tiempo que un animal de experimentación dedica a interactuar con un con-específico. La reducción de la interacción social y las respuestas aversivas hacia los estímulos sociales, como el *freezing* reflejan miedo social. El estudio del miedo social en roedores ha sido

investigado a través de paradigmas de estrés que utilizan estresores sociales como evitación social, inestabilidad social y derrota social, entre otros (Toth & Neumann, 2013).

Los mecanismos neurobiológicos que modulan el miedo generado por estresores sociales siguen en gran parte sin explorar. A nivel neuroanatómico, se considera que el hipocampo es una estructura esencial para la adquisición del condicionamiento del miedo contextual y que se encuentra implicado en el aprendizaje de reconocimiento social (Guzmán et al., 2014). Se ha documentado que tras varias semanas de estrés crónico de subordinación crónica en *musarañas arborícolas* se observa una disminución del volumen hipocampal (Miczek, Yap, & Covington, 2008).

Las memorias de miedo derivada de estresores psicológicos y/o sociales, puede desempeñar un papel crítico en el desarrollo de trastornos y enfermedades relacionadas con el estrés (Tamashiro et al., 2005). Ello, porque el aprendizaje del miedo da lugar a algunos de los recuerdos más fuertes, detallados y duraderos (Izquierdo et al., 2016).

En este contexto, un estudio realizado por Gómez-Varas, Valdés y Manzanero (2016) sobre trauma psicológico en víctimas de tortura durante la dictadura militar en Chile, mostró que cuarenta años después, el 54.5% de las víctimas aún presentaba síntomas de ansiedad, un 45.5% síntomas de depresión y 16.7 % trastorno de estrés postraumático. Ello evidencia que, eventos aversivos llevan a la formación de recuerdos traumáticos perjudiciales para el organismo y conducen a trastornos de salud mental (Dzib-Goodin, Jiménez, Estévez, & Sanders, 2016).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante años las investigaciones relacionadas con las memorias de miedo, han sido estudiadas con el Miedo Condicionado Pavloviano. Modelo que guarda poca similitud con los desafíos que normalmente enfrentan los animales en su entorno natural y que pueden provocar trastornos relacionados con el estrés social. En este contexto, surge la siguiente interrogante: La experiencia de un estrés social crónico ¿se comporta en el tiempo como una memoria clásica de miedo condicionado?

En base a los antecedentes presentados, se plantea la siguiente hipótesis y objetivos de trabajo:

HIPÓTESIS

La experiencia de la derrota social se consolida como una memoria de miedo social en las ratas intrusas, la cual se extingue cuando no está la rata residente en el contexto en que ocurrió la derrota.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la memoria de miedo en un contexto social

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Aplicar pruebas conductuales para estudiar la memoria de miedo social
2. Cuantificar la consolidación de la memoria de miedo generada en un contexto social
3. Cuantificar la extinción de la memoria de miedo social generada en un contexto social

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales de experimentación

En los experimentos se utilizaron ratas machos adultos *Sprague–Dawley* de 75 y 77 días post natal (DPN), con un peso de 380-500 g al inicio de experimento, los cuales se mantuvieron separados individualmente en cajas de acrílico de 20x20x40 cm con un ciclo circadiano de 12/12 h de luz/oscuridad (luz encendida a las 8:00 AM), en una habitación con temperatura y humedad controlada (20 $\pm$ 1° C, 60%). Las habitaciones en donde se realizaron los experimentos se encontraban aisladas de ruidos ambientales externos, presentando un ruido ambiental de 63 dB (Precision sound level meter, Model # 1100, Quest Technologies, Oconomowoc, WI). Los animales fueron alimentados ad libitum con un agua filtrada (Whirlpool, Modelo WK9001QLB, Taiwan, China) y comida LabDiet® (Prolab RMH 3000, MO, USA).

Todos los experimentos y la manipulación de los animales se realizaron de acuerdo al protocolo ético establecido por el National Institutes of Health, USA (NIH, s.f.) y aprobado por el comité de ética de la Universidad de Valparaíso. Se aplicó el principio de las 3R: reemplazo, reducción y refinamiento, para así investigar si existía otro camino para realizar el experimento (reemplazo); utilizar la menor cantidad de animales posible (reducir); y refinar las técnicas antes de aplicarlas a los animales y disminuir el malestar animal al máximo (refinar), (Protocolo Manejo Animal, FONDECYT 1141276).

Diseño experimental

Para el diseño experimental se consideraron dos grupos experimentales, cada uno de ellos formados por siete ratas (Tabla N° 1).

Tabla N° 1. Grupos experimentales utilizados.

Grupo Experimental	N° de ratas
Control	7
Estrés	7

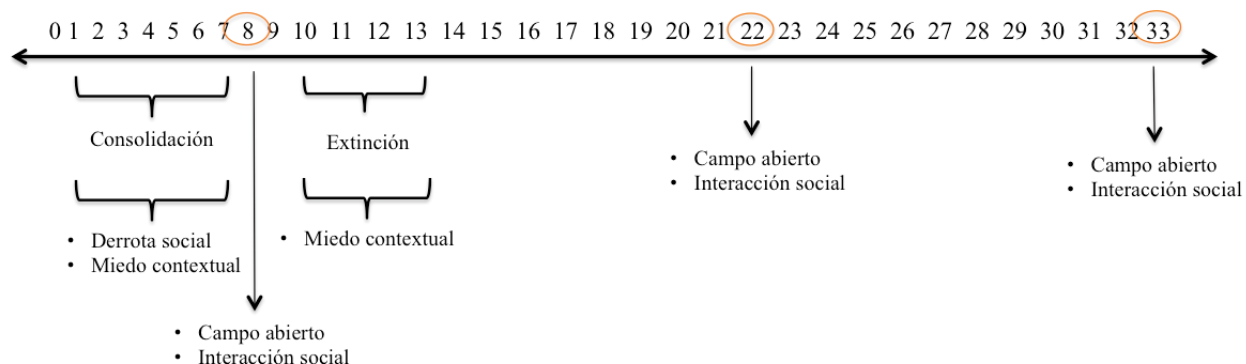
Los animales pertenecientes al grupo experimental estrés, fueron sometidos al paradigma de estrés social por Derrota Social y a las pruebas conductuales de Miedo Contextual, Campo Abierto e Interacción Social. En tanto que, los animales del grupo experimental control solo fueron sometidos a las pruebas conductuales señaladas.

En ambos grupos experimentales (control y estrés), se aplicaron las pruebas conductuales Campo Abierto e Interacción Social los días 8, 22 y 33 del experimento (Tabla N° 2). Cada rata experimental se mantuvo en cajas separada individualmente desde el día 1 hasta el día 25 del experimento. Luego, se agruparon de a 3 ratas por caja hasta el día 33 del experimento.

El experimento constó de dos fases:

- Consolidación de una memoria de miedo social
- Extinción de la memoria de miedo social

El esquema 1 muestra un resumen del diseño experimental usado.



Esquema 1. Diseño experimental.

Tabla N° 2. Procedimientos desarrollados durante el experimento.

Experimento				
Procedimientos			Grupos experimentales	
Paradigma y Pruebas	Días experimento	Nº ratas	Control	Estrés
Derrota Social	1 al 7	7	no	si
Miedo Contextual	1 al 7- 10 al 13	7-4	si	si
Extinción	10 al 13	4	si	si
Campo Abierto	8-22-33	7-4-2	si	si
Interacción Social	8-22-33	7-4-2	si	si

Consolidación de la memoria de miedo generada en un contexto social

Protocolo de estrés

El paradigma de estrés crónico *Derrota social* que se utilizó en este estudio ha sido modificado por Wood, Walker, Valentino y Bhatnagar (2010) a partir del modelo residente-intruso desarrollado originalmente por Miczek (1979). Este paradigma ha sido ampliamente utilizado dada su alta validez y su habilidad para modelar la sintomatología de trastornos relacionados con el estrés, como es la depresión y la ansiedad. De acuerdo con este paradigma, durante cada episodio de estrés social una rata macho *Sprague-Dawley* (intruso) se colocó en la caja de un macho *Long-Evans* desconocido (residente) previamente seleccionado como altamente agresivo. Se consideró sumisión o “derrota social” cuando el intruso asumió una posición supina durante aproximadamente 3 segundos. Después de la derrota, se colocó en la caja una rejilla de alambre para evitar el contacto físico entre el residente y el intruso, pero permitiendo el contacto visual, auditivo y olfativo por el resto de la sesión de derrota social hasta completar 30 minutos. Esto se repitió por 7 días. Si un intruso se resistía a la derrota por 15 minutos, las ratas se separaban con la rejilla por el resto de la sesión. Las ratas fueron devueltas a sus cajas individuales después de cada sesión.

Pruebas conductuales

Miedo Contextual

Se utilizó la prueba Miedo Contextual adaptada por Hollis, Wang, Dietz, Gunjan y Kabbaj (2010). Es una prueba de 5 minutos que permite evaluar la memoria de un evento

traumático. Cada rata intrusa fue colocada en la caja del residente, sin el residente presente y se evaluó el tiempo de congelación y la actividad exploratoria. Esta prueba se empleó durante los 7 días del paradigma de estrés, 5 minutos antes de aplicar el estrés. Además, se utilizó durante los 4 días del entrenamiento de extinción, 5 minutos previo al entrenamiento.

Campo Abierto

Esta prueba conductual, descrita por Hall en 1934, se utilizó para analizar la actividad locomotora y conducta tipo ansiosa (Pruet & Belzung, 2003). Todo el procedimiento se realizó en una sala con temperatura controlada (21 ± 1 o C). Cada rata, por separado, se introdujo en el centro de una caja de acrílico negro (70 x 70 x 40 cm) (Fig. A) durante 5 minutos. El nivel de ruido en el centro del laberinto fue de 40 dB (sonómetro de precisión, modelo # 1100, Quest Technologies, Oconomowoc, WI) y se iluminó a 300 ± 20 luxs (medidor digital de Lux, modelo # LX-1010B, Weafo Instrument Co., Shanghai, China). El rendimiento de cada rata fue grabado por una cámara HD-3000 widescreen (LifeCam HD-3000, Microsoft, USA) fijada encima del campo abierto. Los videos fueron adquiridos y analizados a través del programa ANY-maze (Stoelting Co., Illinois, EE.UU.). Luego de cada rata evaluada, el campo abierto fue limpiado con una solución de etanol al 5% para eliminar las pistas olfativas que dejan los animales.

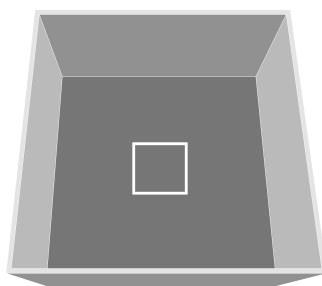


Fig. A. Caja Campo abierto.

Interacción Social

Se sometió a las ratas a la prueba de interacción social, tal como fue descrito por Francis et al. (2015). Mediante la prueba de interacción social se ha demostrado que los animales socialmente derrotados exhiben evitación social de larga duración, lo cual permite modelar mejor que otros paradigmas las alteraciones sociales persistentes. Las ratas fueron colocadas en un campo abierto (70x70x40 cm) con una caja perforada (25x15 cm) situada en una zona de interacción durante 2.5 minutos (Fig. B) y se midió el tiempo que pasa el animal en la zona de interacción mediante el software Any-Maze (Stoelting Co., Illinois, EE.UU.). Posteriormente, otra rata *Sprague-Dawley* macho se colocó por 15 minutos dentro de la caja perforada y se evaluó el tiempo que la rata experimental pasaba interactuando socialmente con la rata nueva en la zona de interacción.

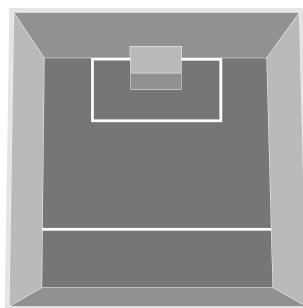


Fig. B. Caja Interacción Social.

Extinción de la memoria de miedo generada en un contexto social

Para la extinción de una memoria de miedo social, cada rata intrusa (*Sprague-Dawley*) previamente sometida al protocolo de estrés por Derrota Social, se colocó en la caja del residente que la derrotó (*Long-Evans*), sin el residente presente por 10 minutos durante 4 días.

Ganancia de Peso

Como marcador fisiológico del estrés se utilizó la medición de ganancia de peso de las ratas a partir del DPN 75-77. Los animales se pesaron todos los días del experimento con una balanza digital (modelo WLC2/A1, Radwag, Polonia).

Cuantificación consolidación y extinción de memoria de miedo

La cuantificación de la consolidación y extinción de la memoria de miedo generada en un contexto social, se obtuvo a través de las pruebas conductuales Miedo Contextual, Campo Abierto e Interacción social.

Miedo Contextual:

- Análisis de freezing: se analizó y cuantificó el tiempo y latencia de freezing de cada rata intrusa en la caja del residente donde fue derrotada.
- Análisis de Actividad Exploratoria: se analizó y cuantificó la distancia recorrida (m) y la velocidad máxima y promedio (m/s) de cada animal.

Campo Abierto:

- Análisis de Actividad Locomotora: Se analizó y cuantificó la distancia recorrida (m), la velocidad máxima y promedio (m/s) de cada animal.
- Análisis de Conducta tipo Ansiosa: Se analizó y cuantificó el tiempo que pasaba cada animal en el centro y periferia de la caja campo abierto.

Interacción Social

- **Análisis Interacción social:** se analizó y cuantificó el tiempo que cada rata experimental interactuaba socialmente con una rata nueva en la zona de interacción.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos fueron sometidos a las pruebas de normalidad Shapro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov para determinar los datos que se distribuyeron normalmente. Al respecto, los datos que pasaron la prueba de normalidad (distribución normal) fueron analizados a través de la estadística paramétrica varianza de mediciones repetidas (ANOVA de dos vías). Como post-hoc se usó la prueba de Bonferroni de comparaciones múltiples.

Los datos que no pasaron la prueba de normalidad debido al número reducido de la muestra, fueron analizados a través del Múltiple t test para estadística no paramétrica. Como corrección de la múltiple comparación se usó el método Holm-Sidak. Además, se utilizó la prueba Mann-Whitney para analizar la diferencia entre los animales de los grupos estrés y control.

Se cuantificó la ganancia de peso de las ratas, en donde la variable dependiente fue el peso y las variables independiente fueron la condición estrés y el tiempo. Las variables independientes en el miedo contextual durante la consolidación de la memoria de miedo social, fueron la condición estrés y tiempo, y las variables dependientes fueron el tiempo y latencia de freezing, distancia recorrida, velocidad máxima y media.

Durante la extinción de la memoria de miedo social, la variable independiente en el miedo contextual, fue la condición estrés y las variables dependientes fueron el tiempo y latencia de freezing, distancia recorrida, velocidad máxima y media.

La variable independiente en el campo abierto fue la condición estrés y las variables dependientes fueron la distancia recorrida, la velocidad máxima y media, y el tiempo en el centro y periferia. La variable independiente en la prueba de Interacción Social fue la condición estrés y la variable dependiente fue el tiempo de interacción.

Todos los datos se presentan como promedios y el error de medición estándar (SEM). Los niveles de probabilidad menores o igual a 0.05, fueron considerados estadísticamente significativos. Se usó el programa estadístico GraphPad 6.

RESULTADOS

Consolidación de la memoria de miedo generada en un contexto social

Marcador fisiológico del estrés

Ganancia de peso

El protocolo de estrés crónico derrota social, afectó la ganancia de peso en los animales del grupo experimental estrés (Fig. 1B). El estrés aplicado produjo un aumento de la ganancia de peso estadísticamente significativo en los animales del grupo estrés respecto al grupo control ($F_{(1, 6)} = 10.69$, $p = 0.0174$). El análisis estadístico mostró que en la interacción entre el estrés aplicado y los días del experimento (Fig. 1A), se obtienen diferencias significativas desde el día 3 hasta el día 6 del experimento ($F_{(6, 36)} = 49.61$, $p < 0.0001$). Se observa que en ambos grupos experimentales hubo aumento de la ganancia de peso en el tiempo.

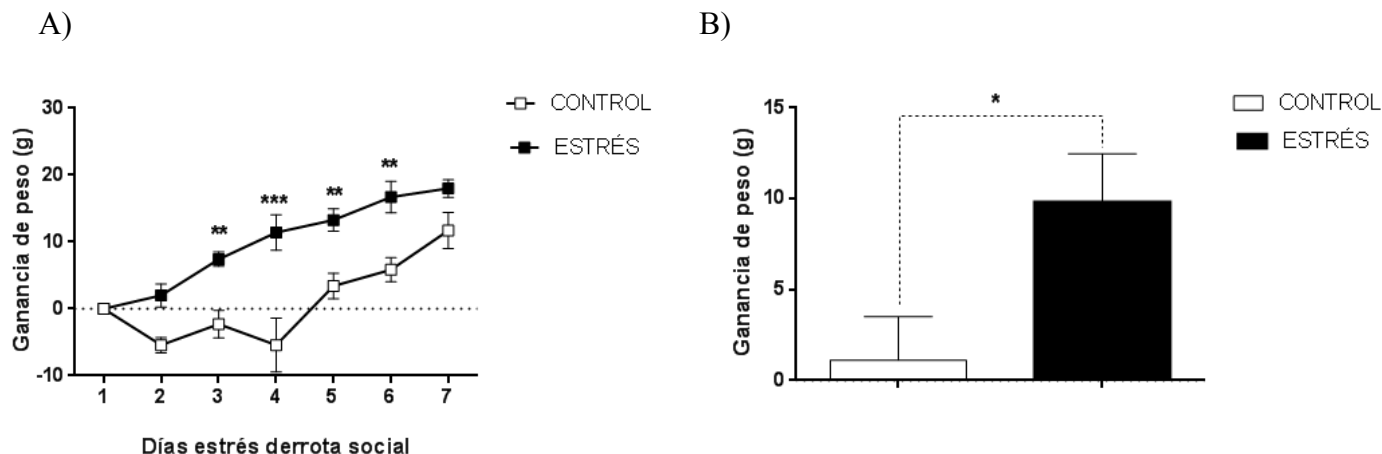


Fig. 1. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre la ganancia de peso. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. * = indica diferencia significativa en la interacción entre estrés aplicado y días experimentales (A), y los animales del grupo estrés y grupo control (B), ($p < 0.0001$; $p = 0.0174$, respectivamente).

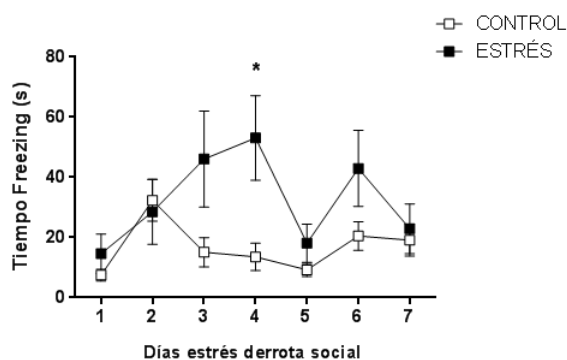
Miedo contextual

Freezing

En la fig. 2A, se observa que el tiempo de freezing, en la interacción entre el estrés aplicado y los días, aumentó significativamente el día 4 del estrés ($F(6, 72) = 2.845$, $p = 0.0153$). Asimismo, se evidencian diferencias significativas entre los animales del grupos estrés y control ($F(1, 12) = 5.479$, $p = 0.0373$). Las ratas del grupo estrés presentan un aumento significativo en el tiempo de freezing comparado con las ratas del grupo control (Fig. 2B).

La fig. 3A, indica que la latencia de freezing, en la interacción entre el estrés aplicado y los días, no difiere significativamente ($F(6, 72) = 1.1$, $p = 0.3612$). Mientras que, en la fig. 3B se evidencian diferencias significativas entre los animales del grupo estrés y control ($F(1, 12) = 69$, $p < 0.0001$). El análisis estadístico muestra que los animales del grupo estrés presentan una disminución significativa respecto a los animales del grupo control los días 6 y 7 del estrés.

A)



B)

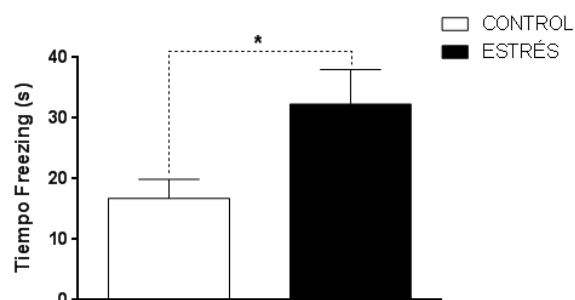
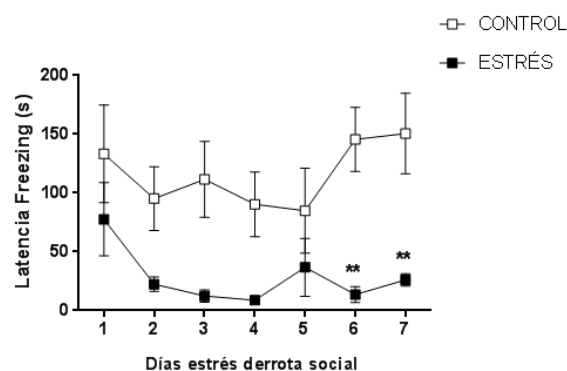


Fig. 2. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre el tiempo de freezing. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa en la interacción entre el estrés aplicado y los días experimentales (A), ($p=0.0153$) y entre los grupos experimentales estrés y control (B), ($p=0.0373$).

A)



B)

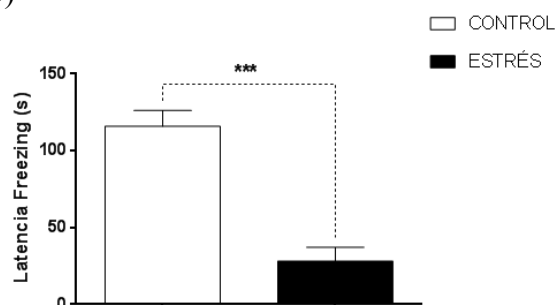


Fig. 3. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre la latencia de freezing. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa entre los animales de los grupos experimentales (B), ($p<0.0001$).

Actividad exploratoria

En la fig. 4A, se observa que la distancia recorrida, en la interacción entre el estrés aplicado y los días, no difiere significativamente ($F(6, 72)=1.944$, $p=0.0853$). No obstante, se evidencian diferencias significativas entre los animales del grupo estrés y control ($F(1, 12)=55.17$, $p<0.0001$), (Fig. 4B). El análisis estadístico muestra que el grupo estrés presenta una

disminución significativa respecto al grupo control durante todos los días del estrés, excepto los días 1 y 2.

En la fig. 5A, se observa que la velocidad máxima, en la interacción entre el estrés aplicado y los días, no difiere significativamente ($F(6, 72) = 0.9778$, $p = 0.4466$). En tanto que, al comparar entre los animales de los grupos estrés y control, se evidencian diferencias significativas ($F(1, 12) = 5.654$, $p = 0.0349$), (Fig. 5B). El análisis estadístico muestra que el grupo estrés presenta una disminución significativa respecto al grupo control al día 7 del estrés.

La fig. 6A, muestra que la velocidad media, en la interacción entre el estrés aplicado y los días, no difiere significativamente ($F(6, 72) = 1.902$, $p = 0.0920$). Mientras que, al comparar entre los animales de los grupos estrés y control, se evidencian diferencias significativas ($F(1, 12) = 54.36$, $p < 0.0001$), (Fig. 6B). El análisis estadístico muestra que el grupo estrés presenta una disminución significativa respecto al grupo control los días 3, 4, 5, 6 y 7 del estrés aplicado.

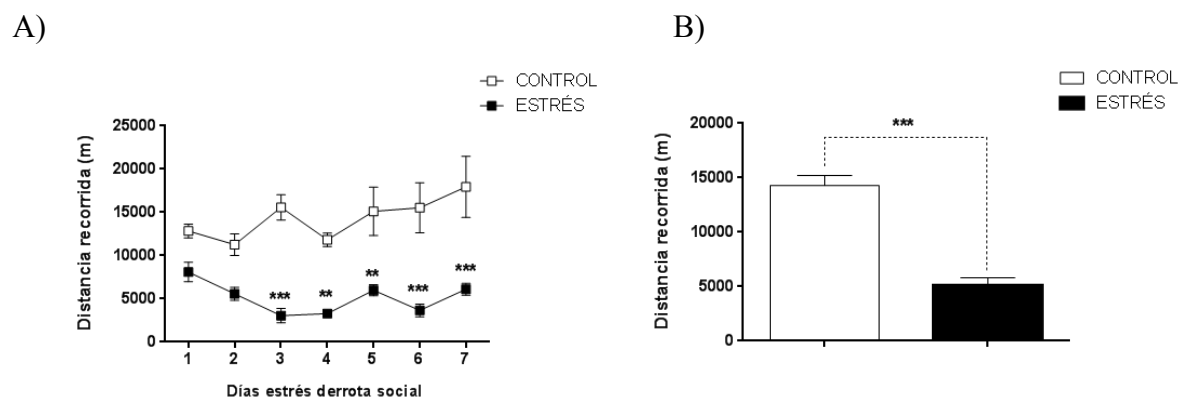


Fig. 4. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre la distancia recorrida. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. * = indica diferencia significativa entre los animales del grupo estrés y control (B), ($p < 0.0001$).

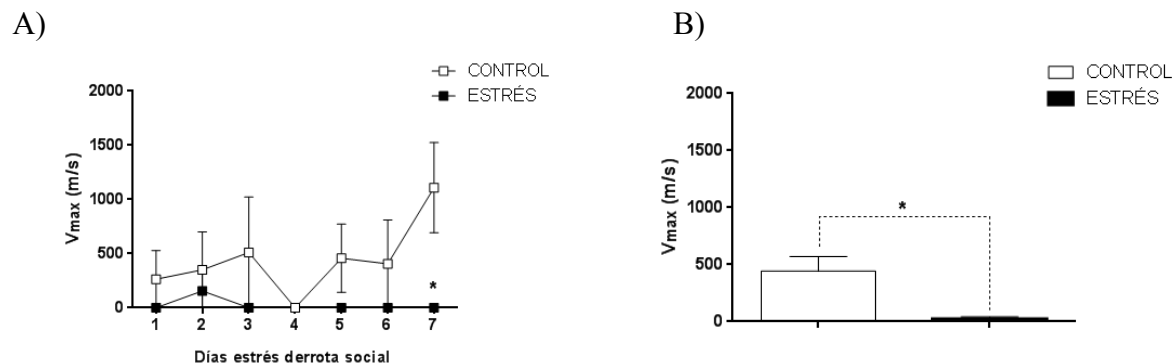


Fig. 5. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre la velocidad máxima. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa entre los animales del grupo estrés y control (B), ($p=0.0349$).

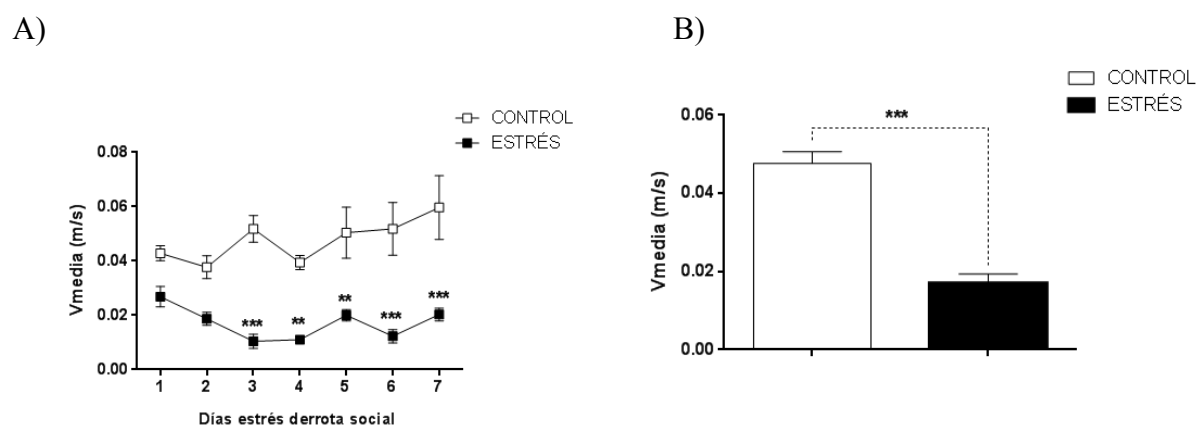


Fig. 6. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre la velocidad media. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa entre los animales del grupo estrés y control (B), ($p<0.0001$).

Campo Abierto

Actividad Locomotora

En la fig. 7A, se observa que después del estrés crónico aplicado, la distancia recorrida entre los animales de los grupos estrés y control no difiere significativamente ($p= 0.2564$). Respecto a la velocidad máxima (fig. 7B), no se obtienen diferencias estadísticamente

significativas entre las ratas del grupo estrés y grupo control ($p=0.0973$). En relación a la velocidad media (Fig. 7C), el análisis estadístico no muestra diferencias significativas entre los animales del grupo estrés y los animales del grupo control ($p= 0.2692$).

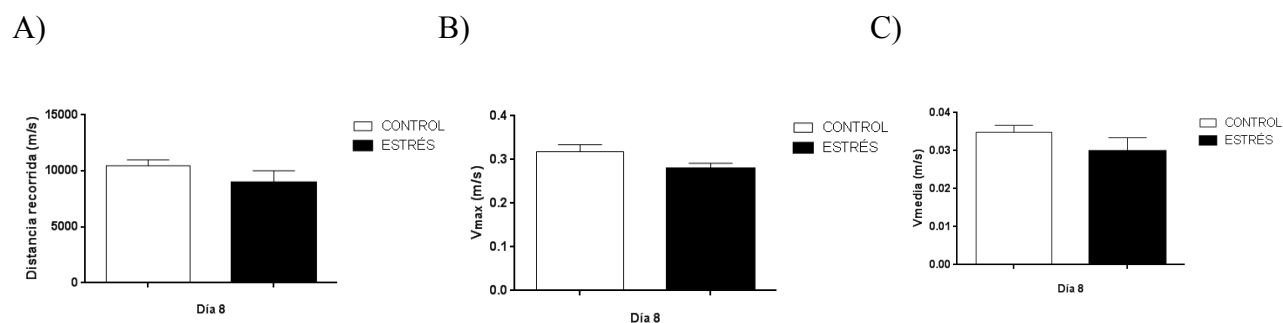


Fig. 7. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre la actividad locomotora. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM.

Conducta tipo ansiosa

La fig. 8A, muestra que después del estrés crónico aplicado, el tiempo en el centro del campo abierto no difiere significativamente entre los animales del grupo estrés y grupo control ($p= 0.2069$). Respecto al tiempo en la periferia (Fig. 8B), no se obtienen diferencias estadísticamente significativa entre las ratas del grupo estrés y el grupo control ($p=0.2564$).

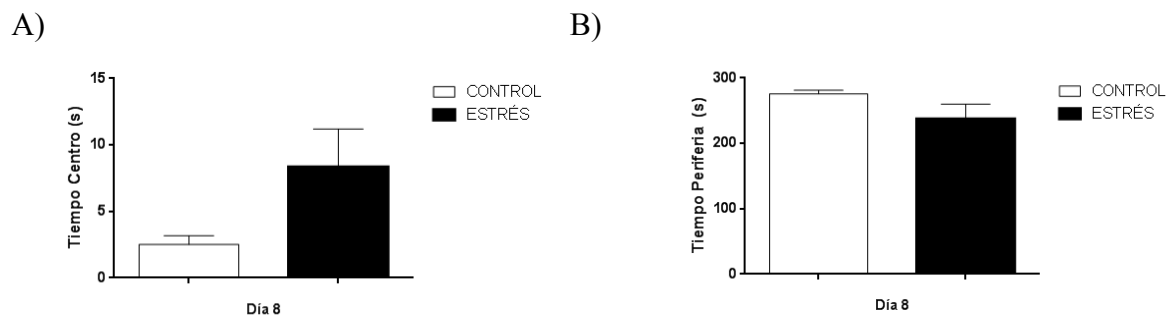


Fig. 8. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre la conducta tipo ansiosa. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM.

Interacción Social

Respecto al tiempo de interacción social después del estrés crónico aplicado, se obtiene una diferencia significativa entre los animales de los grupos estrés y control ($p= 0.0006$). En la fig. 9 se observa una disminución significativa en el tiempo de interacción en las ratas del grupo estrés comparado con las ratas del grupo control.

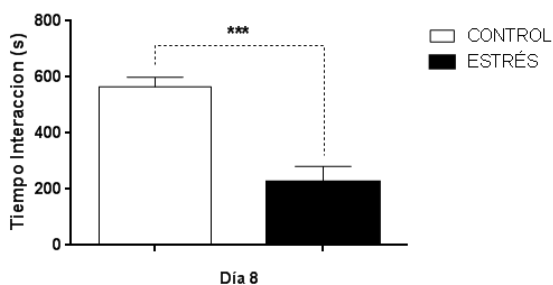


Fig. 9. Efecto del protocolo de estrés psicosocial Derrota Social sobre el tiempo de interacción social. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. * indica diferencia significativa en el tiempo de interacción entre el grupo estrés y el grupo control ($p=0.0006$).

Extinción de la memoria de miedo social generada en un contexto social

Marcadores fisiológicos del estrés

Ganancia de peso

El análisis estadístico mostró que en la interacción entre el entrenamiento de extinción y los días del experimento (Fig. 10A), se obtienen diferencias significativas los días 1, 3 y 4 del experimento ($F(3, 9) = 25.37, p = 0.0001$). Se observa, que en ambos grupos experimentales hubo

aumento de la ganancia de peso en el tiempo. Mientras que, en la fig. 10B no se observa diferencias significativas en la ganancia de peso entre los animales del grupo estrés en comparación con los animales del grupo control ($F(1, 3) = 8.318$, $p = 0.0633$).

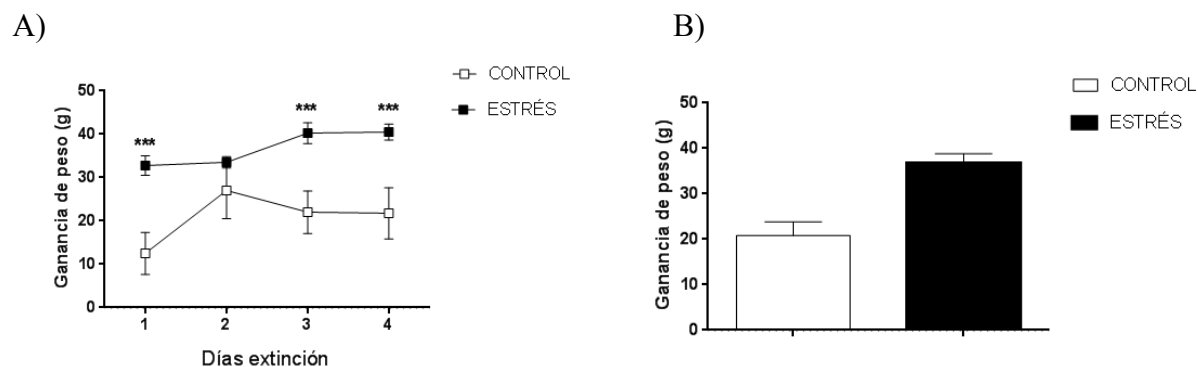


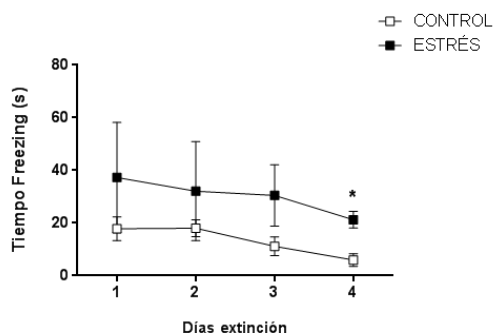
Fig. 10. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la ganancia de peso. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa en la interacción entre entrenamiento de extinción y días experimentales (A), ($p=0.0001$).

Miedo contextual

Freezing

La fig. 11A muestra que en el análisis estadístico se obtuvo una diferencia significativa entre los grupos estrés y control el día 4 del entrenamiento de extinción ($p=0.0084$). No obstante, la fig. 11B muestra que durante el entrenamiento de extinción no se obtienen diferencias estadísticamente significativas en el promedio del tiempo de freezing entre las ratas del grupo estrés y las ratas del grupo control ($p= 0.0571$).

A)



B)

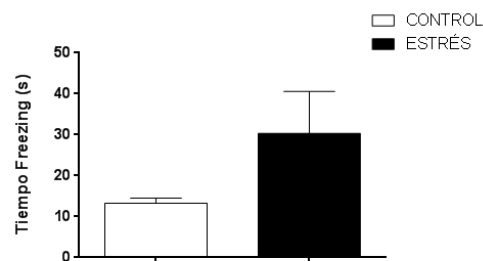
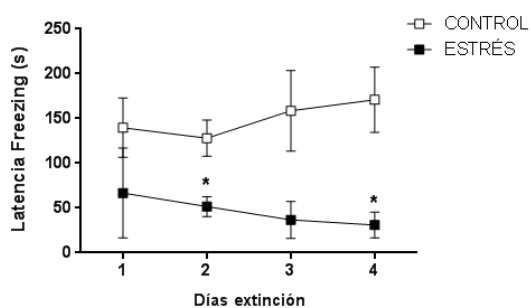


Fig. 11. Efecto del entrenamiento de extinción sobre el tiempo de freezing. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa en el tiempo de freezing entre los grupos estrés y control (A), ($p=0.0084$).

La fig. 12B, muestra que durante el entrenamiento de extinción se obtienen diferencias estadísticamente significativas en la latencia de freezing entre las ratas del grupo estrés y las ratas del grupo control ($p=0.0286$). La fig. 12A evidencia una diferencia significativa al día 2 del entrenamiento ($p= 0.0157$) y al día 4 del entrenamiento ($p= 0.0116$).

A)



B)

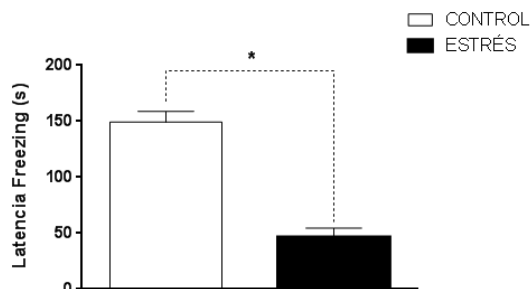


Fig. 12. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la latencia de freezing. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa entre los grupos estrés y grupo control ($p=0.0286$).

Actividad exploratoria

En la fig. 13B, se indica que la distancia recorrida, durante el entrenamiento de extinción difiere significativamente entre las ratas del grupo estrés y grupo control ($p= 0.0286$). La fig. 13A evidencia una diferencia significativa al día 2 del entrenamiento ($p= 0.0048$).

En la fig. 14B, se observa que la velocidad máxima durante el entrenamiento de extinción difiere significativamente entre los animales de los grupos estrés y grupo control ($p= 0.0286$). No obstante, el análisis estadístico no evidencia diferencias significativas durante los días del entrenamiento (Fig. 14A).

La fig. 15B, muestra que durante el entrenamiento de extinción, se obtienen diferencias estadísticamente significativas en la velocidad media entre las ratas del grupo estrés y grupo control ($p= 0.0286$). La fig. 15A evidencia una diferencia significativa al día 2 del entrenamiento ($p= 0.0048$).

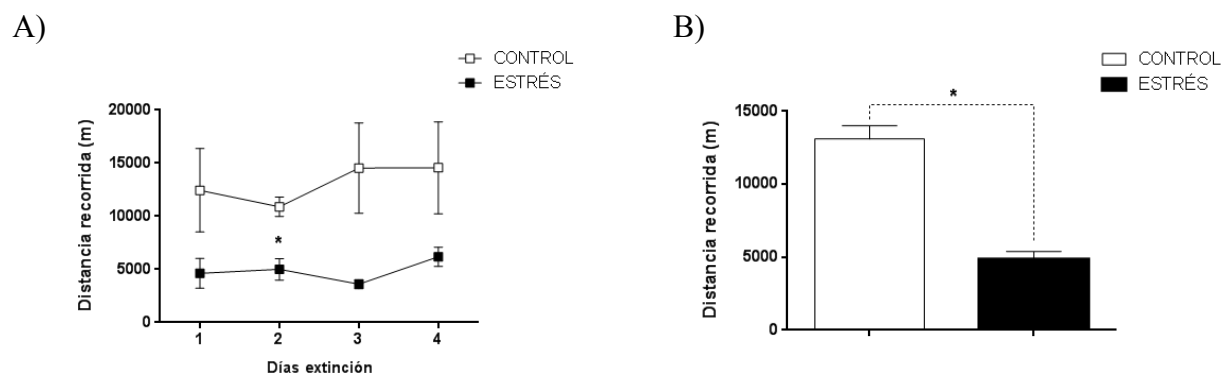


Fig. 13. Efecto del entrenamiento de extinción sobre distancia recorrida. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. *= indica diferencia significativa entre los animales del grupo estrés y control (B) ($p=0.0286$).

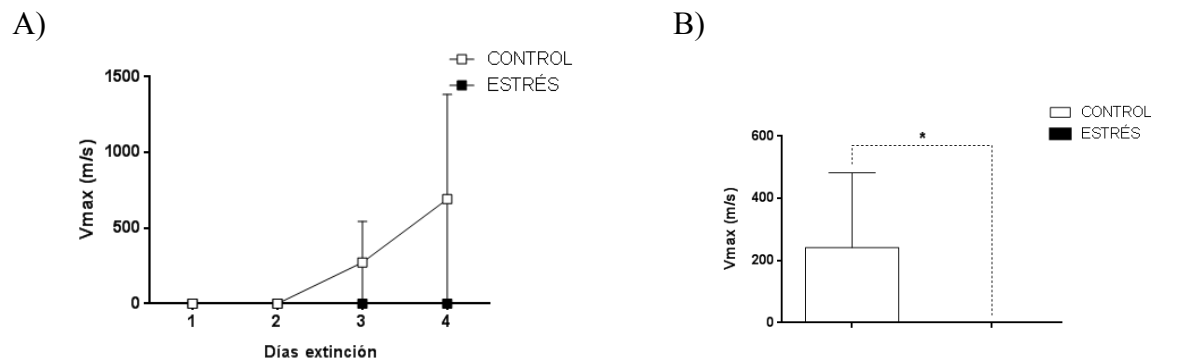


Fig. 14. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la velocidad máxima. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. * = indica diferencia significativa entre los animales del grupo estrés y control (B) ($p=0.0286$).

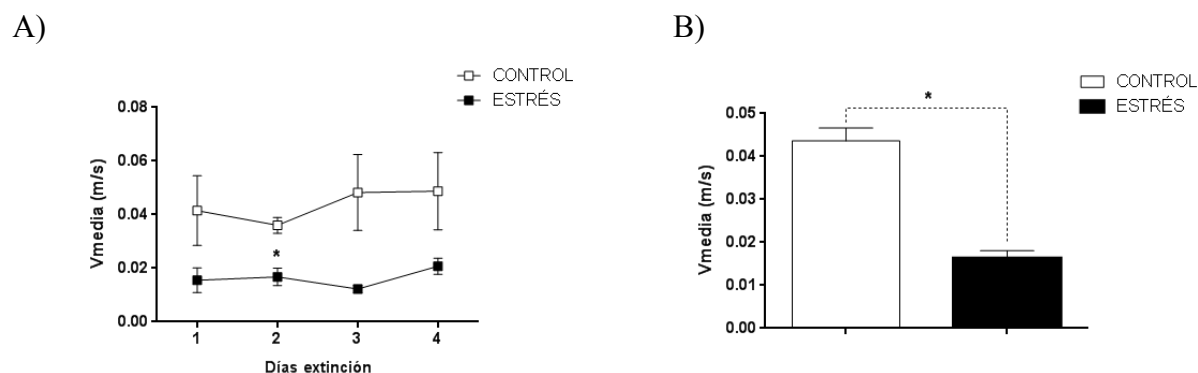


Fig. 15. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la velocidad media. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM. * = indica diferencia significativa entre los animales del grupo estrés y control (B) ($p=0.0286$).

Campo Abierto

Actividad Locomotora

En la fig. 16A, se observa que 9 días después de finalizada la extinción, la distancia recorrida entre los animales de los grupos estrés y control no evidencia diferencias significativas ($p= 0.1000$). Respecto a la velocidad máxima (fig. 16B), no se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre las ratas de los grupos estrés y control ($p=0.4000$). En

relación a la velocidad media (Fig. 16C), el análisis estadístico no muestra diferencias significativas entre los animales de los grupos estrés y los animales del grupo control ($p=0.1000$).

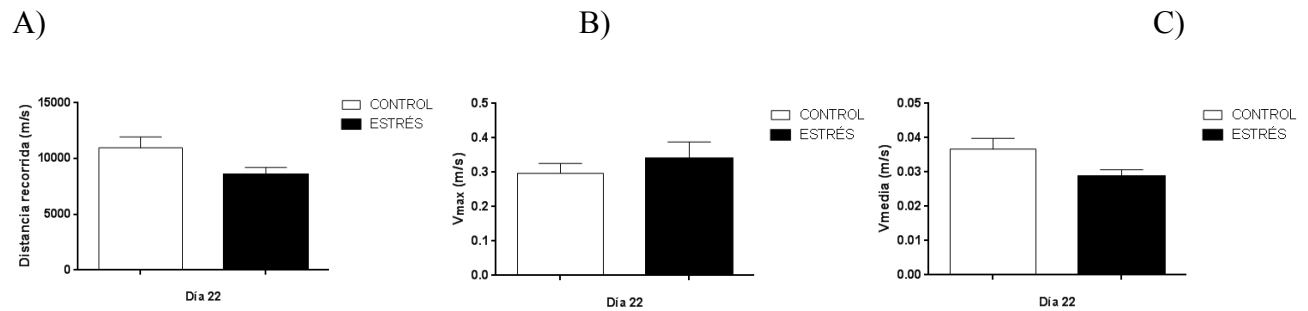


Fig. 16. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la actividad locomotora. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM.

En la fig. 17A, se observa que después de 20 días finalizado la extinción y 26 días finalizado el estrés, la distancia recorrida entre los animales de los grupos estrés y control no evidencia diferencias significativas ($p=0.3333$). Respecto a la velocidad máxima (fig. 17B), no se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre las ratas de los grupos estrés y control ($p=0.6667$). En relación a la velocidad media (Fig. 17C), el análisis estadístico no muestra diferencias significativas entre los animales de los grupos estrés y los animales del grupo control ($p=0.3333$).

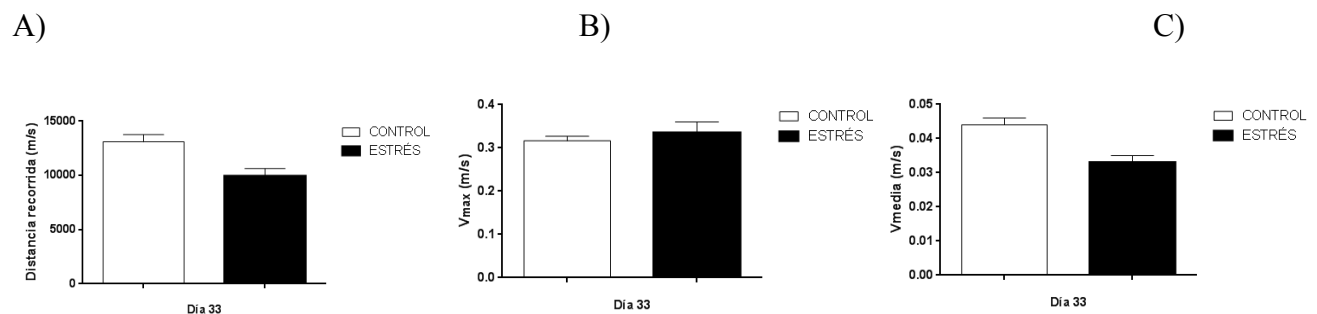


Fig. 17. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la actividad locomotora 20 días después finalizado el entrenamiento y 26 días finalizado el estrés. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM.

Conducta tipo Ansiosa

La fig. 18A, muestra que 9 días después de la extinción, el tiempo en el centro del campo abierto no difiere significativamente entre los animales del grupo estrés y control ($p= 0.7000$). Respecto al tiempo en la periferia (Fig. 18B), no se obtienen una diferencia estadísticamente significativa entre las ratas del grupo estrés y control ($p=0.9000$).

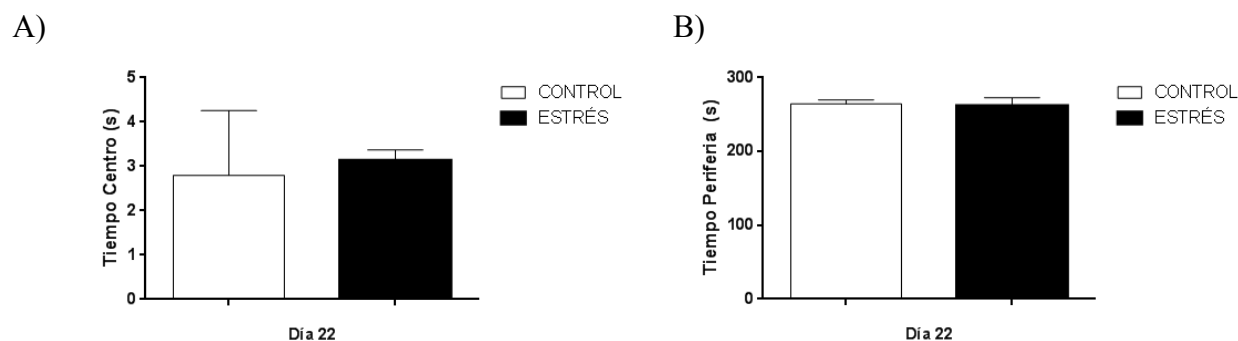


Fig. 18. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la conducta tipo ansiosa. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM.

En la fig. 19A, se observa que después de 20 días finalizado el entrenamiento de extinción y 26 días finalizado el estrés, el tiempo en el centro del campo abierto no difiere significativamente entre los animales del grupo estrés y control ($p= 0.3333$). Respecto al tiempo en la periferia (Fig. 19B), no se obtienen diferencias estadísticamente significativa entre las ratas del grupo estrés y control ($p=0.3333$).

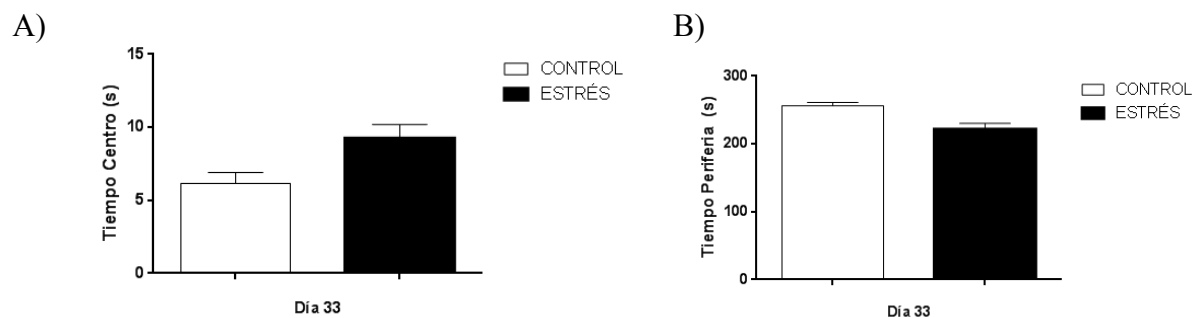


Fig. 19. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la conducta tipo ansiosa 20 días después finalizado la extinción y 26 días finalizado el estrés están representados como promedio $\pm$ SEM.

Interacción Social

La fig. 20 muestra el tiempo de interacción social 9 días después de la extinción. Al respecto, no se obtiene una diferencia estadísticamente significativa entre los animales de los grupos estrés y control ($p=0.1000$). No obstante, se observa una disminución en el tiempo de interacción social en los animales del grupo estrés comparado con los animales del grupo control.

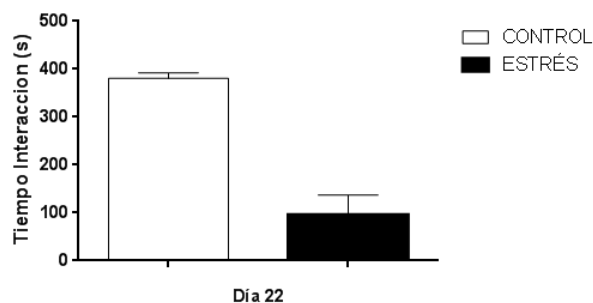


Fig. 20. Efecto del entrenamiento de extinción sobre el tiempo interacción social. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM.

En la fig. 21 se muestra el tiempo de interacción social después de 20 días finalizado la extinción y 26 días finalizado el estrés, no se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre los animales de los grupos estrés y control ($p=0.3333$). No obstante, se observa una disminución en el tiempo de interacción social en los animales del grupo estrés comparado con los animales del grupo control.

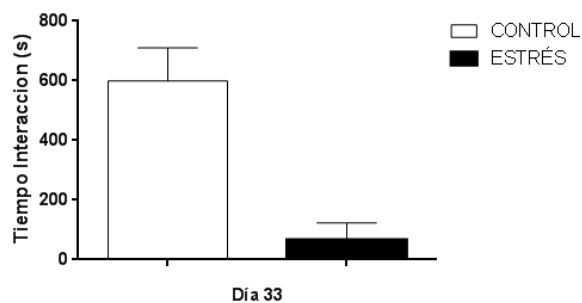


Fig. 21. Efecto del entrenamiento de extinción sobre la interacción social 20 días después finalizado el entrenamiento y 26 días finalizado el estrés. Los datos están representados como promedio $\pm$ SEM.

DISCUSIÓN

En esta investigación se muestra que el estrés crónico derrota social genera efectos significativos en el tiempo de freezing, actividad exploratoria e interacción social en las ratas del grupo experimental estrés. Estos efectos han sido descritos previamente en la literatura científica como cambios conductuales producto de este tipo de estrés.

Consolidación de la memoria de miedo generada en un contexto social

Marcador fisiológico

El aumento significativo de la ganancia de peso en los animales del grupo experimental estrés difiere con lo mayormente reportado en la literatura científica. Al respecto, autores como Tamashiro et al. (2005) y Rygula et al. (2005), señalan que uno de los cambios generados por el estrés social es la disminución de la ganancia de peso en los animales sometidos a estrés. Ello, sugiere una reducción en el consumo de alimento y/o un aumento en la tasa metabólica. Sin embargo, aún no se han realizado evaluaciones sistemáticas de la relación entre la ingesta de alimentos y el metabolismo en el estrés social (Tamashiro et al., 2005). Hammels et al. (2015), señala que si bien la mayoría de los estudios de derrota social informan una disminución de la ganancia de peso, algunos estudios realizados con ratones muestran lo contrario. Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta investigación podrían deberse a un aumento en el consumo de alimentos y/o disminución de la tasa metabólica, o también a la reducción significativa en la actividad exploratoria entre los animales del grupo estrés y grupo control durante la prueba de miedo contextual, lo que llevaría a un menor gasto energético.

Miedo contextual

Respecto a la conducta de freezing durante la prueba de miedo contextual, se observó un aumento significativo en el tiempo de freezing y una disminución significativa en la latencia de freezing en las ratas del grupo estrés en comparación a las ratas de grupo control. Esto sugiere que la experiencia de la derrota social genera una de las respuestas conductuales establecidas como indicador de miedo condicionado, el freezing. Al respecto, son escasos los estudios que han evaluado el miedo contextual por derrota social. Un estudio realizado por Hollis, Wang, Dietz, Gunjan y Kabbaj (2010), muestra un aumento significativo en el tiempo de freezing durante la prueba de miedo contextual, que persistió más de un mes después de la última exposición a la derrota social. Sin embargo, en aquel estudio se definió la conducta de freezing como la ausencia de la actividad exploratoria, lo cual difiere con la definición de freezing descrita en esta investigación inmovilidad generalizada de la musculatura esquelética excepto los músculos utilizados en la respiración (Takahashi et al., 2006; Izquierdo et al., 2016). Por otra parte, Buwalda et al. (2005) evaluó, 35 días después de una doble derrota, el tiempo de freezing de las ratas del grupo estrés en la casa de la rata residente sin la rata presente. Al respecto, obtuvieron mayor tiempo de freezing comparada con las ratas del grupo control. Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la derrota social provoca una respuesta de miedo contextual condicionada.

En relación a la actividad exploratoria, se obtiene una disminución significativa en las ratas del grupo estrés comparadas con las ratas del grupo control. Estos resultados evaluados durante la prueba de miedo contextual han sido escasamente descritos. No obstante, los resultados obtenidos concuerdan con el estudio realizado por Buwalda et al. (2005) donde se evaluó la actividad exploratoria de las ratas intrusas 35 días después de una doble derrota y los

resultados obtenidos evidencian que las ratas derrotadas pasaban menos tiempo explorando la caja del residente cuando éste no estaba presente. Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta investigación, sugieren que las ratas sometidas al estrés crónico social recuerdan el contexto donde fueron derrotadas, ya que pasan más tiempo en freezing y menos tiempo explorando el contexto condicionado.

Campo Abierto

En relación a la actividad locomotora, no se obtuvo diferencias significativas entre las ratas del grupo estrés y las ratas del grupo control. Estos resultados, sugieren que el estrés aplicado no tuvo efectos sobre la actividad locomotoras de las ratas estresadas. Al respecto, son escasos los estudios que reportan resultados similares a los obtenidos en esta investigación. Contrariamente, el estudio realizado por Rygula et al. (2005) señaló que las ratas sometidas al estrés crónico derrota social 1 hora diario por 5 semanas, presentaban una disminución significativa en la actividad locomotora. Dicha evaluación fue realizada con una prueba conductual distinta a la utilizada en esta investigación. Las diferencias con el presente estudio, podrían deberse a la duración del protocolo de estrés crónico, ya que fue aplicado por 30 minutos por 7 días, por lo tanto no generó efectos significativos en la actividad locomotora.

Respecto a la conducta tipo ansiosa, no se observaron diferencias significativas entre los animales del grupo estrés y el grupo control. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Korte y Boer, (2003), quienes demostraron que en las ratas derrotadas socialmente presentaban un aumento significativo de la conducta tipo ansiosa en el laberinto elevado que duró 1 día. Sin embargo, no encontraron diferencias significativas entre los grupos estresados y sin estrés en 1, 2 y 3 semanas después de la derrota. Si bien en ese estudio evaluaron la conducta tipo ansiosa con

otra prueba conductual, los resultados no difieren con los obtenidos en esta investigación utilizando la prueba de campo abierto. Sin embargo, en Buwalda et al. (2005), un estudio realizado por Ruíz et al. (1999), informó que después de una sola exposición a la derrota, las ratas aisladas socialmente mostraron un aumento de la conducta tipo ansiosa que duró hasta 14 días después de la derrota. Otros estudios señalan que el estrés crónico por derrota social influye en diversos comportamientos que persisten mucho después de la finalización del estrés, como la escasa exploración en espacios abiertos y con mucha luz, lo cual se ha interpretado como un aumento de la conducta tipo ansiosa (Fanous, Hammer, & Nikulina, 2010; Miczek et al., 2008). Por lo tanto, los resultados observados en esta investigación, sugieren que el estrés no generó conducta tipo ansiosa en las ratas del grupo estrés, o que no se obtuvieron diferencias significativas porque las ratas del grupo control al estar aisladas socialmente, al igual que las ratas estrés, presentaron un aumento en la conducta tipo ansiosa, ya que si observamos el tiempo en la periferia, se observa que las ratas del grupo control presentan un mayor aumento en el tiempo periférico que las ratas estrés. Al respecto, investigaciones han señalado que el estresor aislamiento social aumenta la conducta tipo ansiosa (Cárdenas-Villalvazo et al., 2010). Ello, porque el estrés crónico genera hipertrofia de las neuronas estrelladas de la amígdala lateral, lo cual ha sido asociado a un aumento de la ansiedad en animales de experimentación (Dagnino, 2012).

Interacción Social

Después de la aplicación del estrés crónico, se observa una disminución significativa en el tiempo de interacción social en las ratas del grupo estrés en comparación con las ratas del grupo control. Por lo tanto, el estrés social genera una disminución en el tiempo de interacción

social. Dicha disminución coincide con lo reportado en la literatura científica. Estudios señalan que el estrés crónico por derrota social interviene en diversas conductas que persisten después de la finalización del estrés, incluida la evitación social (Fanous et al., 2010; Miczek et al., 2008). Sin embargo, el miedo condicionado a través de estresores no sociales como choque eléctrico también induce la evitación social en las ratas estresadas durante la prueba de interacción social (Toth, & Neumann, 2013). Por lo tanto, pareciera que la disminución de la interacción social no es inducida exclusivamente por estresores sociales.

Extinción de la memoria de miedo social generada en un contexto social

Marcador fisiológico

Si bien hubo un aumento en la ganancia de peso de ambos grupos experimentales conforme avanzaban los días, no se obtuvo diferencias significativas en la ganancia de peso entre los animales del grupo experimental estrés y control. Los resultados obtenidos no se han evidenciado en la literatura científica hasta el momento. No obstante, podrían deberse a una disminución del consumo de alimento y/o un aumento en la tasa metabólica en las ratas del grupo estrés (Tamashiro et al, 2005).

Miedo contextual

Respecto a la conducta de freezing, se observa que el promedio del tiempo de freezing de las ratas del grupo estrés y las ratas del grupo control no difiere significativamente. Sin embargo, se obtuvo una diferencia significativa entre ambos grupos experimentales la última sesión de extinción. Dicha diferencia podría deberse al retorno del recuerdo del miedo condicionado, ya

que la extinción no borra recuerdos de memorias de miedo, sino que genera una memoria inhibidora capaz de suprimir temporalmente la expresión del miedo (Quirk et al., 2010). Tal como menciona Monfils, Cowansage, Klann y LeDoux (2009), el retorno del recuerdo del miedo depende de variables contextuales, sensoriales y temporales. No obstante lo anterior, los resultados sugieren, que si bien se evidencia una diferencia significativa en un día del entrenamiento, se observa una tendencia general a la disminución del tiempo de freezing en las ratas del grupo estrés. Esto podría deberse a que el estrés crónico reduce el recuerdo de la memoria de miedo condicionado (Dagnino, 2012; de Quervain et al., 2017) y/o que el estrés mejora el aprendizaje de la extinción del miedo (de Quervain et al., 2017). Se sugiere para futuras investigaciones, aumentar el número de la muestra y días de entrenamiento de extinción e incorporar estímulos sociales durante la extinción del miedo social gradualmente, lo cual se ha visto que disminuye el miedo social en ratones condicionados (Toth & Neumann, 2013).

En relación a la latencia de freezing, se obtuvo diferencias significativas entre ambos grupos experimentales. Las ratas del grupo estrés presentan una disminución significativa en la latencia comparado con las ratas del grupo control. Dicha diferencia concuerda con la diferencia significativa en el tiempo de freezing, el día 4 del entrenamiento entre ambos grupos experimentales. Por tanto, los resultados sugieren que las ratas sometidas a estrés tienen una latencia disminuida debido a que recuerdan el miedo condicionado rápidamente y por ello presentan freezing.

La actividad exploratoria en el entrenamiento de extinción, se mantuvo significativamente disminuida en las ratas del grupo estrés. Estos resultados sugieren que las ratas sometidas estrés podrían aún recordar el miedo condicionado ya que aún presentan un

tiempo de freezing significativo al día 4 de la extinción en comparación con las ratas del grupo control, y por ello exploran poco la caja del residente.

Campo Abierto

Después de nueve días finalizada la extinción y veinte y seis días finalizado el estrés, el entrenamiento de extinción no generó diferencias significativas en la actividad locomotora entre las ratas del grupo estrés y el grupo control. Al respecto, no se ha encontrado literatura científica que reporte resultados sobre la actividad locomotora luego de la extinción de una memoria de miedo social., Se sugiere aumentar el número de la muestra para futuras investigaciones.

Respecto a la conducta tipo ansiosa, nueve días finalizada la extinción y veinte y seis días finalizado el estrés no se obtuvieron diferencias significativas entre los animales del grupo estrés y el grupo control. Estos resultados podrían deberse a que el entrenamiento no generó conducta tipo ansiosa en las ratas del grupo estrés. Por otra parte, podría explicarse por un aumento en la conducta tipo ansiosa en las ratas del grupo control debido aislamiento social (Cárdenas-Villalvazo et al., 2010).

Interacción social

En relación a la interacción social, nueve días finalizada la extinción y veinte y seis días finalizado el estrés, se observa que los animales del grupo estrés presentan una disminución en el tiempo de interacción respecto al control. Sin embargo, ésta disminución no es estadísticamente significativa, lo cual podría deberse al número de la muestra. La disminución en la interacción social, sugiere que los efectos del estrés crónico por derrota social persisten a lo largo del tiempo (Fanous et al., 2010). Un estudio realizado por Toth y Neumann (2013), utilizaron la exposición

repetida de estímulos sociales durante la extinción del miedo social y observaron que paulatinamente se revierte el miedo social en ratones condicionados. Si bien, condicionaron el miedo social a través de un paradigma que incluye estresores físicos como el clásico paradigma pavloviano de miedo condicionado, sería interesante para futuras investigaciones, incorporar la exposición repetida y graduada de estímulos sociales durante la extinción del miedo social condicionado por estresores psico-sociales. Al respecto, no se ha encontrado antecedentes en la literatura científica.

Finalmente, la experiencia del estrés crónico derrota social se consolida como una memoria de miedo social en las ratas intrusas, ya que las ratas del grupo estrés recuerdan el contexto donde fueron derrotas, lo cual se manifiesta a través del aumento del tiempo de freezing en la caja del residente. Además, disminuyen el tiempo de interacción social lo cual ha sido descrito en la literatura como un indicador más de miedo social. Por otra parte, la disminución paulatina del tiempo de freezing durante la extinción sugiere que la memoria de miedo social puede extinguirse. Además, si se añade la exposición repetida de estímulos sociales durante la extinción podría observarse una disminución del miedo social condicionado.

La memoria de miedo social se comporta en el tiempo similar a una memoria clásica de miedo condicionado. Por lo tanto, las estructuras neuroanatómicas implicadas en la adquisición y consolidación del miedo social condicionado deben ser las que Izquierdo et al. (2016) y LeDoux (2000) proponen: hipocampo, amígdala y CPF.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la experiencia de la derrota social se consolida como una memoria de miedo social en las ratas intrusas, la cual se comienza a extinguir cuando no está la rata residente en el contexto en que ocurrió la derrota. Por lo tanto, la memoria de miedo social se comporta en el tiempo similar a una memoria clásica de miedo condicionado.

Implicancias clínicas

Estudiar la neurobiología del miedo social permite conocer y comprender las estructuras neuroanatómicas que se encuentran implicadas en la memoria relacionada con el miedo social y su funcionalidad. Por lo tanto, es fundamental estudiar la memoria ya que tiene un rol importante en trastornos relacionados con traumas y factores de estrés, y trastornos de ansiedad como la fobia específica y trastorno de ansiedad social (Asociación Americana de Psiquiatría, 2013).

Lo anterior permitirá innovar o modificar terapias farmacológicas y/o psicológicas que respondan de mejor manera a la circuitería neuronal implicada en la memoria de miedo social. Ello, porque las terapias de exposición basadas en la extinción son utilizadas como tratamiento para trastornos relacionados con la ansiedad y estrés postraumático. No obstante, dichos tratamientos no benefician a todos, y de los que se benefician, muchos muestran un retorno del miedo (Monfils et al., 2009).

Por lo tanto, las intervenciones psicoterapéuticas deben ser desarrolladas sobre los procesos de la memoria: consolidación, recuperación, reconsolidación y extinción. Al respecto, el entrenamiento de extinción dentro de una ventana de reconsolidación abierta por un EC sin el

El evita el retorno de la memoria del miedo por más tiempo (Monfils et al., 2009). La administración de glucocorticoides mejora la extinción del miedo en pacientes con trastorno de estrés postraumático y fobias, y reduce el recuerdo de la memoria relacionada al trauma (de Quervain et al., 2017).

FINANCIAMIENTO

Esta investigación fue financiada por el proyecto FONDECYT N° 1141276 y el proyecto Anillo de Ciencia y tecnología ACT1403 (Alexies Dagnino).

REFERENCIAS

- Aguilera, G. (2012). The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and neuroendocrine responses to stress. En Fink, G., Pfaff, D., & Levine, J. (Ed.), *Handbook of Neuroendocrinology* (175-196). London, Waltham, San Diego: Academic press Elsevier.
- Asociación Americana de Psiquiatría. (2013). *Guía de consulta de los criterios diagnósticos del DSM 5*. Arlington, VA, Asociación Americana de Psiquiatría.
- Becker, C., Zeau, B., Rivat, C., Blugeot, A., Hamon, M., & Benoliel, J. (2008). Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystokinin. *Molecular psychiatry*, 13(12), 1079-1092.
- Buwalda, B., Kole, M., Veenema, A., Huininga, M., de Boer, S., Korte, S., & Koolhaas, J. (2005). Long-term effects of social stress on brain and behavior: a focus on hippocampal functioning. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(1), 83-97. doi: 10.1016/j.neubiorev.2004.05.005
- Cárdenas-Villalvazo, A., López-Espinoza, A., Martínez, A., Franco, K., Díaz, F., Aguilera, V., & Valdez, E. (2010). Consumo de alimento, crecimiento y ansiedad, tras estrés por hacinamiento o aislamiento de ratas. *Revista mexicana de análisis de la conducta*, 36(2), 129-142. Recuperado de

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-45342010000200009&lng=es&tlng=pt.

Dagnino-Subiabre, A. (2012). Modelos animales para el estudio del estrés y las conductas depresivas. *Farmacol.* 5(1), 19-26. Recuperado de http://www.sofarchi.cl/medios/revistas/Revista_de_Farmacologia_de_Chile_2012_V5_N1.pdf#page=20

Dagnino-Subiabre, A. (2013). Effects of chronic stress on the auditory system and fear learning: an evolutionary approach. *Neurosci*, 24(2), 1-11. doi: 10.1515/revneuro-2012-0079

de Quervain, D., Schwabe, L., & Roozendaal, B. (2017). Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(1), 7-19. doi:10.1038/nrn.2016.155

Dzib-Goodin, A., Jimenez, E., Estevez, R., & Sanders, L. (2016). Biological systems involved in the post traumatic stress disorder. *Revista mexicana de neurociencia*, 17(5), 83-97.

Fanous, S., Hammer, R., & Nikulina, E. (2010). Short-and long-term effects of intermittent social defeat stress on brain-derived neurotrophic factor expression in mesocorticolimbic brain regions. *Neuroscience*, 167(3), 598-607. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.02.064

- Francis, T., Chandra, R., Friend, D., Finkel, E., Dayrit, G., Miranda, J., ... Lobo, M. (2015). Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes Mediate Depression-Related Outcomes to Social Defeat Stress. *Biological Psychiatry*, 77(3), 212–222. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.07.021
- Fuchs, E., & Flügge, G. (2003). Chronic social stress: effects on limbic brain structures. *Physiology & behavior*, 79(3), 417-427. doi: 10.1016/S0031-9384(03)00161-6
- Guzmán, Y., Tronson, N., Sato, K., Mesic, I., Guedea, A., Nishimori, K., & Radulovic, J. (2014). Role of oxytocin receptors in modulation of fear by social memory. *Psychopharmacology*, 231(10), 2097-2105. doi: 10.1007/s00213-013-3356-6
- Hammels, C., Pishva, E., De Vry, J., van den Hove, D., Prickaerts, J., van Winkel, R., ... van Os, J. (2015). Defeat stress in rodents: from behavior to molecules. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 59, 111-140. doi: 10.1016/j.neubiorev.2015.10.006
- Hollis, F., Wang, H., Dietz, D., Gunjan, A., & Kabbaj, M. (2010). The effects of repeated social defeat on long-term depressive-like behavior and short-term histone modifications in the hippocampus in male Sprague–Dawley rats. *Psychopharmacology*, 211(1), 69-77. doi:10.1007/s00213-010-1869-9

- Izquierdo, I., Furini, C., & Myskiw, J. (2016). Fear memory. *Physiological reviews*, 96(2), 695-750. doi: 10.1152/physrev.00018.2015
- LeDoux, J. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annual review of neuroscience*, 23(1), 155-184. doi: 10.1146/annurev.neuro.23.1.155
- Maren, S. (2017). Synapse-Specific Encoding of Fear Memory in the Amygdala. *Neuron*, 95(5), 988-990. doi: 10.1016/j.neuron.2017.08.020
- McEwen, B. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*, 87(3), 873-904. doi: 10.1152/physrev.00041.2006
- McGaugh, J. (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science*, 153(3742), 1351-1358. doi: 10.1126/science.153.3742.1351
- Miczek, K. A. (1979). Chronic delta 9-tetrahydrocannabinol in rats: effect on social Interactions, mouse killing, motor activity, consummatory behavior, and body temperature. *Psychopharmacology*, 60(2), 137-146. doi: 10.1007/BF00432284
- Miczek, K. A., Yap, J. J., & Covington, H. E. (2008). Social stress, therapeutics and drug abuse: preclinical models of escalated and depressed intake. *Pharmacology & therapeutics*, 120(2), 102-128. doi: 10.1016/j.pharmthera.2008.07.006

- Monfils, M., Cowansage, K., Klann, E., & LeDoux, J. (2009). Extinction-reconsolidation boundaries: key to persistent attenuation of fear memories. *Science*, 324(5929), 951-955. doi: 10.1126/science.1167975
- National Institutes of Health (NIH). (s.f). Bioethics Consult Service. USA. Consultado 02-11-107 en <https://www.bioethics.nih.gov/clinical/>
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*, 463(1), 3-33. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01272-x
- Quirk, G., & Mueller, D. (2008). Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 56-72. doi: 10.1038/sj.npp.1301555
- Quirk, G., Paré, D., Richardson, R., Herry, C., Monfils, M., Schiller, D., & Vicentic, A. (2010). Erasing fear memories with extinction training. *Journal of Neuroscience*, 30(45), 14993-14997. doi: 10.1523/jneurosci.4268-10.2010
- Rygula, R., Abumaria, N., Flügge, G., Fuchs, E., Rütger, E., & Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behavioural brain research*, 162(1), 127-134. doi: 10.1016/j.bbr.2005.03.009

Selye, H. (1936.) A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature*, 138, 32-32.

Recuperado

de

https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/45345843/selye_1936.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1513632473&Signature=tmZAgSNRAwNRZeNo5ZoTBz1YK74%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DSelye_1936_-_A_syndrome_produced_by_Dive.pdf

Tafet, G., & Bernardini, R. (2003). Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27(6), 893-903. doi: 10.1016/S0278-5846(03)00162-3

Takahashi, T., Morinobu, S., Iwamoto, Y., & Yamawaki, S. (2006). Effect of paroxetine on enhanced contextual fear induced by single prolonged stress in rats. *Psychopharmacology*, 189(2), 165-173. doi: 10.1007/s00213-006-0545-6

Tamashiro, K. L., Nguyen, M. M., & Sakai, R. R. (2005). Social stress: from rodents to primates. *Frontiers in neuroendocrinology*, 26(1), 27-40. doi: 10.1016/j.yfrne.2005.03.001

Toth, I., & Neumann, I. (2013). Animal models of social avoidance and social fear. *Cell and tissue research*, 354(1), 107-118. doi: 10.1007/s00441-013-1636-4

Wolf, O. (2017). Stress and memory retrieval: mechanisms and consequences. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 14, 40-46. doi: 10.1016/j.cobeha.2016.12.001

Wood, S., Walker, H., Valentino, R., & Bhatnagar, S. (2010). Individual differences in reactivity to social stress predict susceptibility and resilience to a depressive phenotype: role of corticotropin-releasing factor. *Endocrinology*, 151(4), 1795-1805. doi: 10.1210/en.2009-1026