



AINITZE LABAKA ETXEBERRIA

EZEGONKORTASUN SOZIAL KRONIKOAREN ESTRESA ETA BENLAFAXINA TRATAMENDU KRONIKOA SAGU EMEETAN: ALDAKETA IMMUNITARIO, NEUROKIMIKO ETA JOKABIDE ALDAKETAK

ZUZENDARIAK:

Larraitz Garmendia Rezola

Eneritz Gómez Lázaro

DOKTORE TESIA

2018-ko apirila

**Oinarrizko Prozesu Psikologikoak eta haien Garapena saila,
Psikologia Fakultatea,**

Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU)



Tesi hau Eusko Jaurlaritzaren Ikertzaileak
Prestatzeko 2014ko Doktoretza-aurreko
laguntzari (PRE_2015_2_0262) eta Eusko
Jaurlaritzaren Proiektuetarako IT757-13
laguntzari esker gauzatu da.

*“Arimak gorputzaren bidez hartzen
du arnas, eta sufrimendua, izan
azalean nahiz gogamenean sortua,
haragitan mamitzen da”*

**Antonio Damasio, *El Error de
Descartes (1994)***

*“Badirudi zientzia ez dela
sexugabea; gizonezkoa da, aita da
eta infektatuta ere badago”*

Virginia Woolf (1938)

ESKER ONAK

Denbora azkar pasatzen omen da gustura zaudenean eta Olatzek esango lukeen modura, azken hiru urte eta erdian norbaitek abiadura eman dio erlojuari. Noski, abaila horretan zerikusirik izango du konpainia onak, tesi zuzendariekin hasita. Eneritzen hegalean ikasi dut laborategian lan egiten, eta bera da psikobiologiako pasilua niretzako bigarren etxe baten modukoa izatearen arduradunetako bat. Ez dago zurekin eta zuregandik zenbat ikasi dudun kuantifikatuko duen tresnarik. Larraitz, miresten dut zure etika, eta dena zirrikiturik utzi gabe ondo lotzeko duzun gaitasuna, margolan bat borobiltzeko kolore tonu exaktuen bila dabilen artistaren jarraitasunarekin. Baina miresten dut, batez ere, biologia edo biziaren espresio xumeenarekin, fruitua ematen duen landarearekin esaterako, liluratzeko duzun gaitasuna. Katedra bakarrik ez, katedral bat ere egin beharko lizukete. Eskerrik asko biei eman didazuen babes eta konfiantzagatik.

Olatzi zer esango diot bada? Beldur nintzen zer nolako bulegokidea egokituko zitzaidan eta, hara! Zurekin ez dago bulego txarrik, ezta lan txarrik ere, eta prest nago berriz ere edozein herrialdetan orein bila galtzeko. Zorte handia da Joana eta Eider bezalako pertsona ekintzaileekin lan egitea. Eredu zarete niretzat, ikerlari moduan eta pertsona moduan. Andrea, bidea asko erraztu didate zure umore onak eta zure aholkuek. Eskerrik asko Gariri, laborategian lagundutako guztiagatik, Oscarri, edozein zalantza argitzeko prest agertzen delako beti, eta nola ez, eskerrik

asko Mirari, Asier, Gabriela, Aitziber, Jaione eta Eduri. Tesi hau osatzea ez zen posible izango abeltegirik gabe, eta Idoia bezalako langile finekin dena da errazagoa, erretirorik onena opa dizut. Arantzak ere laster utziko du laborategiko bata. Eskerrik asko zuri, Joserrari, Amaiari, eta berriz ere, Larraitzi, berrikiago etorri garenoi betidanik martxan egon dela iruditzen zaigun Psikobiologiako taldea aurrera eramateagatik. Kimu berriak ere gogoz datoz eta Norak askotan lagundu dit une neketsuak barrez arintzen. Renteria-Skywalker, ikerketa honek zurekin segida duela jakiteak ohore ultrasonikoz betetzen nau, indarrak lagun zaitzala.

Eta ezin ahaztu masterrean elkar ezagutu eta doktorego prozesua nirekin batera bizi dutenak, Eva, Unai, Mikel eta Flor. Eva, zuri bereziki, Jotarekin batera, eskerrik asko doktoregaien lan-baldintzak hobetzeko ahaleginengatik, eta nola ez, gure hizketaldi terapeutikoengatik.

Eskerrik asko unibertsitatez kanpoko lagunei ere, Joxebari, saguen taldekatze konbinazioak pazientzia handiz diseinatzeagatik. Kristina eta Uxoari, beren animoengatik eta euskara idatziaren inguruko aholkulari ezin hobeak direlako.

Anderri, nire bizipoz iturri agortezin eta berriztagarriari.

Azkenik, aipamen txiki bat nire familiari, landarea sustraietatik hazten da eta. Eskerrik asko aitari, txikitan kontatutako ipuinengatik. Andoni nebari, irakurtzea oraindik gustatzen ez zitzaidanean lehen *Harry Potter* hura irakurrarazteagatik; Ametsi, beti izango delako nire ahizpa txiki-handia. Eskerrik asko amari, pentsamolde ireki bat oparitzeagatik,

eta amona eta aitona zirenei, kasta pixka bat eransteagatik. Gerez
baserriari, eta zaindu edo zaildu nauen orori.

LABURDURAK

3-HK	3-hidroxikinurenina
5-HIAA	azido 5-hidroxiindoleazetiko
5-HT	5-hidroxitriptamina, serotonina
ACTH	hormona adrenokortikotropa edo kortikotropina (ingelesetik, <i>adrenocorticotropic hormone</i>)
ANOVA	bariantza-analisi
BDNF	garunetik eratorritako faktore neurotrofikoa (ingelesetik, <i>brain derived neurotrophic factor</i>)
BEE	batezbestekoaren errore estandar
BH4	tetrahidrobiopterina
cDNA	azido desoxirribonukleiko osagarri
CRH	kortikotropinaren hormona askatzailea (ingelesetik, <i>corticotropin-releasing hormon</i>)
Ct	atalase-zikloa (ingelesetik, <i>cycle threshold</i>)
CUMS	aurreanezinezko estres kroniko arina (ingelesetik, <i>chronic unpredictable mild stress</i>)
DA	dopamina
DNA	azido desoxirribonukleiko
DNasa	desoxirribonukleasa entzima
DO	dentsitate optiko

DOPAC	azido 3,4-dihidroxifenilazetiko
DSM	gaixotasun mentalen diagnostiko eta estatistika eskuliburua (ingelesetik, <i>diagnostic and statistical manual of mental disorders</i>)
EIA	saiakuntza immunoentzimatiko (ingelesetik, <i>enzyme immunoassay</i>)
ELISA	entzimei lotutako immunoabsortzioko saiakuntza (ingelesetik, <i>enzyme linked immunosorbent assay</i>)
EPM	goratutako gurutze-labirintoaren proba (ingelesetik, <i>elevated plus maze</i>)
ER	estrogeno hartzaile
ESKE	ezegonkortasun sozial kronikoaren estresa
FST	behartutako igeriketa proba (ingelesetik, <i>forced swimming test</i>)
GAPDH	glizeraldehido-6-fosfato deshidrogenasa
GnRH	gonadotropinen hormona erregulatzailea (ingelesetik, <i>gonadotropin-releasing hormone</i>)
GR	hartzaile glukokortikoide (ingelesetik, <i>glucocorticoid receptor</i>)
GREs	glukokortikoideen erantzun elementuak (ingelesetik, <i>glucocorticoid response elements</i>)
HPA	hipotalamo-pituitario-adrenal ardatza
HPG	hipotalamo-pituitario-gonadal ardatza
HPLC	bereizmen handiko kromatografia likido (ingelesetik, <i>high performance liquid chromatography</i>)

HPRT	hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa
IDO	indolamina 2,3-dioxigenasa entzima
IFN	interferon
IL	interleuzina
IL-1Ra	IL-1 hartzailearen antagonista
KYN	kinurenina
LPS	lipopolisakarido edo endotoxina
LZR	likido zefalorrakideo
MAO	monoamina oxidasa entzima
MCP	monozitoen proteina kimiotaktiko
MHPG	3-metoxi-4-hidroxifenilglukol
MHPG	3-metoxi-4-hidroxifenilglukol
MR	hartzaile mineralokortikoide (ingelesetik, <i>mineralocorticoid receptor</i>)
mRNA	azido erribonukleiko mezulari
NA	noradrenalina
NaCl	sodio kloruro
NBIS	Noradrenalinareen birxurgatzearen inhibitzaile selektiboa.
NF-κB	kappa-B faktore nuklearra
NGF	nerbio-hazkuntza faktore (ingelesetik, <i>nerve growth factor</i>)
NK	zelula hiltzaile natural (ingelesetik, <i>natural killer</i>)

nm	nanometro, uhin luzera
NMDA	N-metil-D-aspartato hartzaileak
NO	oxido nitriko
NOS	oxido nitriko sintasa entzima
NPFT	jaki berri atsegingarriaren proba (ingelesetik, <i>novel palatable food test</i>)
NSA	nerbio sistema autonomo
NSZ	nerbio sistema zentral
NT	neurotrofina
OFT	eremu irekiko proba (ingelesetik, <i>open field test</i>)
PAH	fenilalanina hidroxilasa entzima (ingelesetik, <i>phenylalanine hydroxylase</i>)
PCR	polimerasaren kate-erreakzio (ingelesetik, <i>polimerase chain reaction</i>)
PHE	fenilalanina
RNA	azido erribonukleiko
RNasa	erribonukleasa entzima
rpm	erreboluzio minutuko (gazteleratik, <i>revoluciones por minuto</i>)
RT-PCR	alderantzizko transkripzio polimerasaren kate-erreakzioa (ingelesetik, <i>retro transcription polimerase chain reaction</i>)
SBIS	serotoninaren birxurgatzearen inhibitzaile selektibo

SPT	sakarosa lehenespen proba (ingelesetik, <i>sucrose preference test</i>)
TDO	triptofano 2,3 dioxigenasa entzima
Tf	fusio tenperatura
TH	tirosina hidroxilasa
TMB	3',3',5',5'-tetrametilbenzidina, substratu soluzioa
TNF	tumorearen nekrosi faktorea (ingelesetik, <i>tumor necrosis factor</i>)
TPH	triptofano hidroxilasa entzima
TRYP	triptófono
TST	isatsetik esekitzeko proba (ingelesetik, <i>tail suspension test</i>)
TYR	tirosina

AURKIBIDEA

I. SARRERA.....	1
1.1 ESTRESAREN ERANTZUN FISIOLOGIKOA	7
1.1.1 NSA ESTRES ERANTZUNEAN	¡Error! Marcador no definido.
1.1.2 HPA ARDATZA ESTRES ERANTZUNEAN.....	12
1.2 DEPRESIOA ETA ESTRES SOZIALA	17
1.2.1 DEPRESIOA.....	18
1.2.2 ESTRES SOZIALA ETA DEPRESIOAREN ARTEKO ERLAZIOA	19
1.3 DEPRESIOAREN OINARRI BIOLOGIKOAK	23
1.3.1 HPA ARDATZAREN HIPOTESIA DEPRESIOAN	24
1.3.2 MONOAMINEN HIPOTESIA DEPRESIOAN	27
1.3.3 SOSTENGU NEUROTROFIKOAREN HIPOTESIA DEPRESIOAN	29
1.3.4 SISTEMA IMMUNITARIOAREN HIPOTESIA DEPRESIOAN	31
1.3.4.1 Psikoneuroimmunologia	32
1.3.4.2. Zitokinak, gaixotasun jokabidea eta depresioa	38
1.3.4.3 Zitokinek depresioa eragiteko mekanismo posibleak	40
1.3.4.3.1 Zitokinak eta HPA ardatza.....	40
1.3.4.3.2 Zitokinak eta IDO entzima.....	41
1.3.4.3.3 Zitokinak eta BH4 kofaktorea.....	43
1.3.4.3.4 Zitokinak eta BDNF ekoizpena.....	46
1.4 ESTRES SOZIALA, DEPRESIOA ETA SEXU DESBERDINTASUNAK	47
1.4.1 DESBERDINTASUN PSIKOSOZIALAK ETA JOKABIDE DESBERDINTASUNAK.....	48

1.4.2 DESBERDINTASUN FISIOLÓGIKOAK	53
1.4.2.1 Desberdintasun fisiológico sexualak estres erantzunean.....	55
1.4.2.2 Desberdintasun fisiológico sexualak monoaminetan	56
1.4.2.3 Desberdintasun fisiológico sexualak BDNF-en.....	57
1.4.2.4 Desberdintasun fisiológico sexualak sistema immunitarioan.	58
1.5 BENLAFAXINA	61
II. HELBURUAK ETA HIPOTESIA	67
III. LEHEN ESPERIMENTUA.....	79
3.1 METODOLOGIA.....	81
3.1.1 ANIMALIAK ETA ABELTEGIKO BALDINTZAK	82
3.1.2. DISEINU ESPERIMENTALA	83
3.1.3. ESTRES PROZEDURA.....	85
3.1.4 JOKABIDEAREN EBALUAZIOA.....	86
3.1.4.1 SPT eta janari kontsumoa	86
3.1.4.2 Behartutako igeriketa proba (Forced Swimming Test, FST)....	87
3.1.4.3 <i>Whisking</i> jokabidea	88
3.1.5 ZEHAZTAPEN FISIOLÓGIKOAK.....	89
3.1.5.1 Garun egiturak eraztea	89
3.1.5.2 Odol lagina jaso eta plasma isolatzea	90
3.1.5.3 Plasmako kortikosterona kontzentrazioa zehaztea	91
3.1.5.4 Plasmako estradiol kontzentrazioa zehaztea.....	93
3.1.5.5 Ziklo estrala zehaztea.....	95
3.1.5.6 Garun egituretako gene espresioa denbora errealeko alderantzizko transkripzio polimerasaren kate-erreakzio (RT-PCR) bidez zehaztea.....	97

3.1.5.7 Monoamina, metabolito eta amino azidoak zehaztea	103
3.1.6 ANALISI ESTATISTIKOAK.....	107
3.2 EMAITZAK.....	109
3.2.1 LAU ASTEKO ESKE-REN ERAGINA SAGU EMEEN JOKABIDEAN	110
3.2.1.1 SPT proba, jan kontsumoa eta gorputz pisua	110
3.2.1.2 FST proba	111
3.2.1.3 <i>Whisking</i> jokabidea.....	112
3.2.2 LAU ASTEKO ESKE-REN ERAGINA SAGU EMEEN FISILOGIAN.....	113
3.2.2.1 HPA ardatza: plasmako kortikosterona maila eta hipotalamoko hartzaile glukokortikoideen mRNA espresioa.....	113
3.2.2.2 HPG ardatza: plasmako estradiol maila, hipotalamo eta hipokanpoko ER- α eta ER- β -ren mRNA espresioan eta ziklo estrala.....	115
3.2.2.3 Zitokina pro- eta anti-inflamatorioen etaIDO-ren mRNA espresioa hipokanpoan.....	115
3.2.2.4 Hipokanpoko monoaminen, metabolitoen eta amino azidoen maila.....	117
3.3 EZTABAIDA	121
IV. BIGARREN ESPERIMENTUA	135
4.1 METODOLOGIA.....	137
4.1.1 ANIMALIAK ETA ABELTEGIKO BALDINTZAK.....	138
4.1.2 DISEINU ESPERIMENTALA.....	138
4.1.3 ESTRES PROZEDURA	140
4.1.4 JOKABIDEAREN EBALUAZIOA.....	141
4.1.4.1 OFT proba	141
4.1.5 ZEHAZTAPEN FISILOGIKOAK.....	142
4.1.5.1 Garun egiturak eraztea	142

4.1.6	TRATAMENDU FARMAKOLOGIKOA	144
4.1.7	ANALISI ESTATISTIKOAK	145
4.2	EMAITZAK	147
4.2.1	ZAZPI ASTEKO ESKE-REN ETA BENLAFAXINA TRATAMENDU KRONIKOAREN ERAGINA SAGU EMEEN JOKABIDEAN.....	148
4.2.1.1	SPT proba eta jan kontsumoa	148
4.2.1.2	OFT proba.....	150
4.2.1.3	FST proba	150
4.2.1.4	<i>Whisking</i> jokabidea	151
4.2.2	ZAZPI ASTEKO ESKE-REN ETA BENLAFAXINA TRATAMENDU KRONIKOAREN ERAGINA SAGU EMEEN FISILOGIAN	152
4.2.2.1	Gorputz pisua	152
4.2.2.2	Plasmako kortikosterona maila eta hipotalamo eta hipokanpoko hartzaile glukokortikoideen mRNA espresioa.....	154
4.2.2.3	Hipotalamo eta hipokanpoko ER α eta ER β mRNA espresio mailak.....	158
4.2.2.4	Hipokanpo eta estriatuko zitokinen mRNA espresioa	160
4.2.2.5	Hipokanpoko monoamina, metabolito eta amino azido mailak.....	162
4.2.2.6	Estriatuko monoamina, metabolito eta amino azido mailak	164
4.2.2.7	Kortex prefrontaleko monoamina, metabolito eta amino azido mailak.....	164
4.3	EZTABAIDA.....	169
V.	ONDORIOAK	189
VI.	BIBLIOGRAFIA	195
VII.	ERANSKINA.....	257
I	ERANSKINA.....	259

GRAFIKOEN AURKIBIDEA

1. grafikoa. Sakarosa kontsumoa..	110
2. grafikoa. FST probako jokabidea..	111
3. grafikoa. <i>Whisking</i> jokabide zeinuak.	112
4. grafikoa. HPA ardatza.	114
5. Grafikoa. Hipokanpoko zitokinen espresioa.....	116
6. grafikoa. Hipokanpoko aktibitate monoaminergikoa.	118
7. grafikoa. Sakarosa lehenespena.	149
8. grafikoa. Jan kontsumoa.	150
9. grafikoa. <i>Whisking</i> jokabide zeinuak.	151
10. grafikoa. Gorputz pisua.	153
11. grafikoa. Kortikosterona.	155
12. grafikoa. Hartzaille glukokortikoideak hipotalamoan.	156
13. grafikoa. Hartzaille glukokortikoideak hipokanpoan.	158
14. grafikoa. Estrogeno hartzailleak hipokanpoan.....	159
15. grafikoa. Hipokanpoko zitokinen mRNA espresioa	161
16. grafikoa. Estriatuko zitokinen mRNA espresioa	162
17. grafikoa. Hipokanpoko aktibitate serotonergiko eta noradrenergikoa	164
18. grafikoa. Kortex prefrontaleko aktibitate serotonergikoa	165
19. grafikoa. Kortex prefrontaleko DOPAC maila.	167

IRUDIEN AURKIBIDEA

1. irudia. HPA ardatza eta hartzaille glukokortikoideak estres erantzuenan.	14
2. irudia. Estresaren, immunitatearen eta depresioaren arteko elkarrekintza..	37
3. Irudia. Hanturaren eragina organismoan.	45
4. irudia. Lehen esperimentuko diseinua.	85
5. Irudia. <i>Whisking</i> zeinuak.....	89
6. irudia. Garun egiturak erazteko prozeduraren adibidea.....	90
7. irudia. Ziklo estraleko faseak.	96
8. irudia. Bigarren esperimentuko diseinua.	140
9. irudia. Saguak taldekatzeko kaiola-kide konbinazio egoera desberdinak.....	261

TAULEN AURKIBIDEA

1. taula. PCR primerren zehaztasunak (1. esperimentua).....	102
2. taula. Baldintza kromatografikoak.	106
3. taula. PCR primerren zehaztasunak (2. esperimentua).....	143

I. KAPITULUA

SARRERA

*“Sumendi baten beldur, harroputz baten beldur;
zure baitako indarrak ez daki desberdintzen.
Ez du mailakatzerik egiten”*

Nora K. Jemisin, The Fifth Season

Eboluzioak inguruko mehatxuei aurre egiteko zenbait mekanismo fisiologiko eta jokabide mekanismorekin dohaindu ditu animaliak, subjektuen homeostasiaren eta espezieen biziraupenaren mesedetan. Arrisku bat hautematean, ihesari ekin edo borrokan egitea hil ala bizikoa izan daiteke, eta estres hormonek organismoa ekintzarako prestatzen dute metabolismoa bat-batean orkestratuz. Hipotalamo-pituitario-adrenal (HPA) ardatza eta nerbio sistema autonomoa (NSA) aktibatzen dira, baliabideak garun eta giharretara bideratu eta gorputza bere gaitasun ahalmen gorenera eramanez; zentzumenak zorrotzu eta aparteko ernetasuna ematen da (Cannon, 1939; Selye, 1950).

Gizakion inguru eta bizimoduak azken milurtekoetan aldaketa handia jasan badu ere, eta gaur egungo estresore nagusiak izaera psikosozialekoak badira ere, gure arbasoek harrapakariei aurre egiteko baliatzen zuten “borroka edo ihes” erantzunak lanean darrai gure organismoan (Cockerham, 2013). Faktore psikosozialek ernatutako estres erantzunak, hein batean, arreta estimulu egokietara ardaztea eta esperientzia oroimenean finkatzea sustatzen du, pertsonari gatazka gainditu eta etorkizuneko arazoetara egokitzea ahalbidetuz (Kirby et al., 2013; McEwen, 2007). Estres psikosoziala kronikoa bada ordea, estres erantzuna behin eta berriz pizten da, baina aktibazio neuroendokrinoari ez zaio berehalako ekintza fisikoaren bitartez irteerarik ematen, metabolismoaren desdoitzea eta unadura eraginez. Egoera horrek endekapena eragin dezake HPA ardatzean, neurotransmisio monoaminergikoan eta sistema immunitarioan besteak beste,

organismoa depresioa garatzeko egoera zaugarriagora eramanez (Cockerham, 2013; McEwen, 2004; Sandín, 2003). Depresioa sufrimendu bizia dakarren nahasmendua da, eta Munduko Osasun Erakundearen arabera, egun, lehen ezgaitasun kausa da mundu mailan. Kemenik eza, unadura, plazera sentitu ezina eta pentsamendu negatibo errepikakorrak eragiten ditu besteak beste, eta muturreko kasuetan, nor bere buruaz beste egitea (World Health Organization, 2017).

Baina gaitzaren prebalentzia ez da berdin banatzen emakumezko edo gizonezkoetan, lehenek depresioa pairatzeko bi bider aukera handiagoa dutelarik (Busch, Maske, Ryl, Schlack eta Hapke, 2013; Seedat et al., 2009). Sintomatologian ere sexuaren araberako ezberdintasunak aurkitu dira, eta farmako antidepressiboen eraginkortasuna txikiagoa da emakumezkoetan (Dalla, Pitychoutis, Kokras eta Papadopoulou-Daifoti, 2010). Ezberdintasun horien azpian estimulu bat estresagarritzat hautemateko garaian dauden sexu ezberdintasunak egon daitezke (Bangasser, 2013; Hudson, Jacobson-Pick eta Anisman, 2014), edota estresore beraren aurrean gerta daitezkeen sexuaren araberako jokabide berezitasun edo berezitasun fisiologikoak (Albert, 2015; Cavanagh, Wilson, Kavanagh eta Caputi, 2017). Ildo horretatik, ezagun da giza-fisiologiak ezberdintasun sexualak aurkezten dituela, maila zelularretatik hasi eta estres erantzunean inplikaturako sistema konplexuetaraino, hipotalamo-pituitario-adrenal ardatza, immunitate sistema eta sistema monoaminergikoa tartean direla (Bangasser eta Wicks, 2017; Shah, McCormack eta Bradbury, 2014).

Baina, datu horiei entzungor, depresioaren fisiopatologia eta tratamendu antidepresiboen gaineko ikerketa prekliniko gehienak animalia-eredu arretan gauzatu dira (Beery eta Zucker, 2011; Kreiner, Chmielarz, Roman eta Nalepa, 2013), arren antolakuntza sozialean oinarritutako estres-ereduak erabiliz, eta lortutako emaitzetan oinarritzen da bibliografia zientifikoa. Nahasmendu psikiatrikoak ikertzen dituzten hainbat egileren esanetan, depresioaren patofisiologiaren inguruan jasotako emaitzak sexu batetik bestera orokortzea ez da zientifikoa, eta kaltegarria ere izan daiteke (Belzung eta Lemoine, 2011; Cahill, 2012; Palanza eta Parmigiani, 2017).

Emakumezkoen depresioa ulertu eta tratamendu zehatzagoak aurkitze aldera, beharrezkoa da emeen antolakuntza soziala kontuan hartuta, haiengan estres erantzuna piztu dezaketen eredu egokiak erabiltzea, eta erantzun hori martxan jartzen duten mekanismo fisiologikoak eta jokabide mekanismoak ikertzea. Hori dela eta, ikerlan honen xedea ezegonkortasun sozial kronikoaren estresak sagu emeetan depresio-motako egoera eragiten duen probatzea, eta tratamendu antidepresibo batek egoera hori lehengoratzen duen probatzea da. Ezagutza hori lagungarri gerta daiteke interbentzio terapeutiko zehatzagoak hautatu, diana farmakologiko berriak zehaztu eta prebentzio estrategia proposagoak garatzeko garaian.

1.1 ESTRESAREN ERANTZUN FISIOLOGIKOA

Estresaren fisiologia aztertzeko hastapenetan, Cannon Walter fisiologoak “homeostasi” terminoa erabili zuen barne-orekaren erregulaziori buruz hitz egiteko. Gatazka egoeretan, homeostasi hori mehatxu pean aurki daitekeela adierazi zuen, eta organismoak, erantzun gisa, noradrenalina (NA) eta adrenalina askatzen dituela subjektua borroka edo iheserako presta dadin (Cannon, 1939). Aurrerago, Hans Selye zientzialariak (1950), estresa organismoak edozein gatazka-egoeraren aurrean emandako erantzun egokitzaille inespezifikoa dela gehitu zuen. Gehiegizko estres erantzun errepikakorrek ez dira egokitzailleak ordea, eta “egokitze gaixotasun” modura izendatu zituen. Selyek, hipotalamo-pituitarario-adrenal ardatza (HPA) estres erantzunaren eragile nagusitzat jo zuen. Chrousos eta Goldek aldiz, 1992an, estres erantzunak estresorearen araberako espezifikotasunik bazuela defendatu zuten, faktore genetikoaren, ingurunearen eta aurre-esperientzien arteko elkarrekintzak norbanakoaren estres erantzuna modulatzeko duela azalduz.

Ostera, estresaren inguruko ikerketa alorrean “alostasia” kontzeptu gako gisa agertu zen (McEwen, 1998). Alostasia organismoak estresore ezberdinen aurrean duen moldatze prozesu edota berregokitze fisiologikoari deritzo, eta homeostasi egoerara itzultzea du helburu. Estres erantzuneko bitartekari nagusiak kortisola eta adrenalina hormonak dira, eta oro har, onuragarriak dira, haien ekintzak homeostasia berreskuratzen lagun baitezake. Baina bitartekariak behar bezala aktibatzen ez direnean edo sobera jarduten dutenean –izan estresorea gainditzea lortu ez delako

edota asaldura fisiologikoengatik– subjektuaren organismoa “zama alostatikora” daraman desoreka gertatzen da (McEwen, 2004). Honela, subjektuaren erresistentziak behera egiten du, orotariko gaixotasunak pairatzeko erraztasuna emanez: asaldura metabolikoak, kardiobaskularrak, digestiboak, immunologikoak edota garunekoak, besteak beste.

Gaur egun, Cannon eta Selyeren teorietatik haratago, teoria modernoek estresa homeostasiaren mehatxu modura ulertzen dute, eta estres erantzunaren espezifikotasuna homeostasiaren erronka partikularraren mende dago, hau da, organismoak estres egoerari buruz duen pertzepzioaren eta aurre egiteko duen gaitasunaren mende (Goldstein eta McEwen 2002). Hain zuzen ere, Levinek (2005) estresa prozesu osagarrien arteko elkarrekintza barne-hartzen duen dimentsio anitzeko konposatu moduan definitzen du, estresaren baitako prozesuak honakoak direlarik: (i) Sarreran, estres estimulua hauteman eta balioesten da. (ii) Ondoren informazio estresagarria prozesatzen da. Subjektuaren estresarekiko esperientzia subjektiboak prozesamenduaren nondik norakoa baldintzatuko du. (iii) Irteeran berriz, estres erantzuna gertatzen da. Halaber, norbera erregulatzeko atzeraelikadura zirkuitu konplexuek hiru prozesuak eta haien arteko interakzioa modulatzeko egokitze fisiologiko eta jokabide egokitzeen bidez homeostasia berreskuratzeko.

Estresaren erantzun neurofisiologikoak, organismoak mehatxuari aurre-egiteko beharrezko dituen baliabide eskariak asetzea du helburu. Animalia batek bizi-arriskua sumatzean, berehalako biziraupenak du lehentasuna, eta horretarako energia baliabideak martxan jarri behar dira. Garunak informazio sentsoriala mehatxagarri edo estresagarritzat jotzen badu, sistema linbikoak –hipotalamoa eta hipokanpoa tarteko–modulatutako erantzun neurokimiko, fisiologiko eta jokabide erantzunak martxan jarriko dira. Lehenik eta behin, HPA ardatza eta nerbio sistema autonomoa (NSA) aktibatuz erantzuten dio organismoak estresari. Aktibazio horrek, odola eta mantenugaiak xede organoetara eta garunera bideratuko ditu, arreta gaitasuna handitzea eta erantzun azkarra ematea ahalbidetuz. Berehalako estres erantzuna koordinatzeaz gain, HPA ardatza eta NSA beharrezkoak dira estres erantzunari amaiera emateko, baita organismoa indarberritu eta hurrengo erronkarako prestatzeko ere.

1.1.1 NSA ESTRES ERANTZUNEAN

NSA sistema sinpatiko eta parasinpatikoak osatzen dute, eta hipotalamoko nukleo parabentrikularra arduratzen da berauen aktibazio eta koordinazioaz nagusiki. Sistema sinpatikoak eta parasinpatikoak orotariko guruin eta erraien muskulatura lisoa inerbatzen dute, funtzio begetatibo ugari kontrolatu (kardiobaskularra, arnasketa, urdail-

hesteetako, giltzurrunetako, endokrinoa etab.) eta organismoaren barne homeostasia mantenduz. Estres erantzunean piztutako berehalako aldaketa fisiologiko eta jokabide aldaketak sistema sinpatikoaren ekintzari egotzi zaizkio batik bat (Chrousos, 1998), baina sistema parasinpatikoaren parte hartzea ere beharrezkoa da, sistema sinpatikoaren ekintza indartu edota antagonizatu baitezake (Gilbey eta Spyer, 1993), NSAren aktibitatea doituz.

Horrela bada, erantzun autonomoari hasiera emateko, hipotalamoak nerbio sinpatikoak aktibatzen ditu, zuzenean edota traktu solitarioko nukleoaren eta locus coeruleus nukleoaren bidez, xede zeluletara NA askaraziz. Bestetik, neurona preganglionar sinpatikoek giltzurrun gaineko guruinen muina aktibatzen dute, odolera NA eta adrenalina askaraziz. Katekolamina horiek sistema sinpatikoaren inerbazio zuzenetik at dauden egiturak kitzika ditzakete, haien efektu osagarriaz borroka edo ihes erreakzio azkarrak ahalbidetuz. Jokabide erantzun nagusiak alerta eta zaintza egoera, analisi kognitiboa eta arreta ardazteko gaitasuna areagotzea dira. Erantzun fisiologikoak bihotzean eta odol-hodietan kokatutako hartzaile adrenergikoen bidez gertatzen dira. Honela, bihotz maiztasuna eta bolumen sistolikoa handiarazten da, eta epidermis eta hesteetako basokonstriktzioaren bidez odola garun eta giharretara bideratzen da. Aktibazio sinpatikoak biriken erlaxazioa ere eragiten du bronkio-giharretan, baita arnas maiztasuna handitzea ere. Ondorioz, biriken aireztapena eta odolera oxigeno ekarpena handitzen da. Gainera, adrenalina glukogenolisia estimulatu du gibelean, eta

modu horretan serumeko glukosa maila handitzen da, energiaren eskuragarritasuna berehalakoa izan dadin. Oro har, erantzun honek balio egokitzaile handia du epe motz eta ertainera, esfortzu fisikoa dela eta energia eskaera handia duten organoei nutriente gehiago helarazten baitzaizkio odol fluxuaren bidez, baita arreta eta erantzun kognitibo azkarrak eman beharko dituen garunari ere.

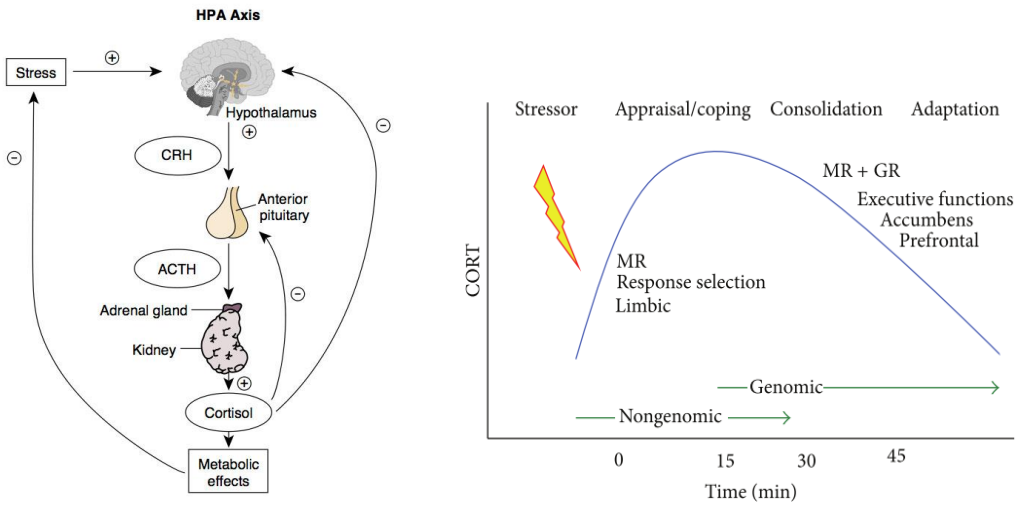
1.1.2 HPA ARDATZA ESTRES ERANTZUNEAN

Estresoreen aurrean, hipotalamoko nukleo parabentrikularra aktibatzen da, HPA ardatzaren ekintza abiaraziz. Hipotalamoak kortikotropinaren hormona askatzailea (CRH) jariatzen du, eta honek, aurreko pituitarioko adrenokortikotropa hormonaren (ACTH) sekrezioa estimulatu du (Tsigos eta Chrousos 1994). Azken honek berriz, giltzurrun gaineko gurutze azalak glukokortikoideak aska ditzaten eragiten du. Gizakietan, glukokortikoide ugariena kortisola da, karraskarrietan aldiz, kortikosterona. Gizakien adibideari helduz, kortisol hormonak estresarekiko aurre egitea martxan jartzen du, hartzaile glukokortikoideen (GR) eta hartzaile mineralokortikoideen (MR) bitartez (Aguilera, 1993). MR-ak ugari dira garuneko egitura linbikoetan (hipokanpoa, hipotalamoa, amigdala eta septuma), GR-en hedadura zabalagoa den bitartean (Chao, Choo eta McEwen, 1989; Van Eekelen,

Jiang, De Kloet eta Bohn, 1988). MRek kortisolarekiko 10 bat bider afinitate handiagoa dute GREk baino. Hori dela eta, kortisol maila baxua denean, baldintza basaletan alegia, MRek kontrolatuko dute HPA ardatzaren sentikortasuna, hartzaile hauei lotuko baitzaie kortisola gehien bat. Gailur zirkadianoa edota estresa dela eta kortisol mailak gora egiten duen heinean, GR-ak beteko dira (Reul eta De Kloet, 1985), eta hauei dagokie HPA ardatzaren estres erantzuna atzeraelikadura mekanismo baten bidez amatatzeko ardura. Zehazki, GR-ak aktibatuak izan artean zelulako zitosolean gordetzen dira, baina kortisolaren eta hartzailearen arteko lotura gertatzean, hartzaileak nukleora translokatzeko dira, eta bertan, DNAREN glukokortikoiden erantzun elementuekin (GREs) elkarrekiten dute CRHren moduko hormona-erantzun geneak aktibatu edo erreprimitzeko (Pratt, 1990).

MR eta GR-en ekintzak elkarrekiko osagarriak dira, zenbait zirkuitutan aurkakoak eta beste batzuetan sinergikoak (Lutfy et al., 2012; Veldhuis et al., 2011; Veldhuis, Iranmanesh, Johnson eta Lizarralde, 1990). Jokabide mailan, bi hartzaileek ere artekari lanetan dihardute informazio estresagarria prozesatzeko garaian. Batetik, MRek HPA ardatzaren ekintza tonikoan parte hartzen dute (Dennis eta O'Malley, 2005) eta estresaren aurrean aurreikuspena, balioestea, erantzunaren aukeraketa eta erabakitze prozesuak erregulatzen dituzte (Fuller, 1992; Nader, Chrousos eta Kino, 2009). Bestetik, estres erantzuna garatu eta kortisol kontzentrazioa igo ahala, GR-ak aktibatzen dira, eremu prefrontaleko funtzio exekutiboak martxan jarri eta energia eskaria handituz

(Iranmanesh, Lizarralde, Short eta Veldhuis, 1990). Aldi berean, GR-en bidez, aurre egite prozesuan bizitako informazioa jasotzen da hurrengo batean erabiltzeko (Du et al., 2009; Song eta Buttgereit, 2006). Funtsean, mekanismo horiek jokabidea egokitzea dute helburu, mehatxua gainditu, estres erantzuna itzali, eta ikasitakoa gordetzeko (ikus 1. Irudia).



1. irudia. HPA ardatza eta hartzaile glukokortikoideak estres erantzunean. (ezker) HPA ardatza estres erantzunean: hipotalamoak CRH askatzen du eta, ondorioz, adenohipofisi edo aurreko pituitaria aktibatzen da. Honek, ACTH jariatzen du eta, ondoren, kortisolaren sintesia bultzatzen da giltzurrun gaineko guruinetan. Kortisola izango da HPA ardatza atzeraelikadura mekanismoaren bidez inhibituko duen mezularia (hipotalamoan CRH-aren jariatpena jaitsiz, eta adenohipofisian ACTH hormona gutxituz). Kortisolaren jariatpena erritmo zirkadianoaren eta estresaren araberakoa da (Pubmed-eko irudi basea). (eskuin) Kortisolaren ekintza informazio estresagarria prozesatzerakoan. Kortisol mailaren gorakadak MR-en bidez egoeraren balorazioa eta berehalako aurre egitea martxan jartzen ditu. Jarraian, progresiboki, GR-ak aktibatzen ditu, energia esperientzia oroimenean gorde eta kontsolidatzeko zirkuitoetara bideratu dadin. Kortisolak erabakiak hartzeko (hipokanpoa eta amigdala), eta funtzio exekutiboak martxan iartzeko (eremu prefrontala eta accumbens nukleoa) duen

Hala eta guztiz ere, NSA eta HPA ez dira estres erantzunean parte hartzen duten sistema bakarrak, eta organismoko beste zenbait sistemekin elkarrekintzan dihardute. Esaterako, HPA ardatza aktibatzen denean hipotalamo-pituitario-gonadal (HPG) deritzon ardatza inaktibatzen du, gonadotropinen hormona erregulatuzailea (GnRH) inhibituz. Horrela, jokabide sexualarekin eta ugalketarekin erlazionatutako mekanismoak eteten dira, energia biziraupenean lehentasun handiagoa duten prozesuetarako gordetzea ahalbidetuz. Kasurako, emakume nahiz animalia emeetan obulazioa eten daiteke egoera estresagarrietan, eta gizon zein animalia arretan testosterona ekoizpena gutxitzea gerta daiteke (Witorsch, 2016). Hala ere, pituitaria tarteko garatzen den mekanismo hori ez da gonadotropinen askatzea inhibitzen duen bakarra, ikerlanek adierazten dutenez, CRHk ere zuzenean eragiten baitu GnRHren erregulazioan (Chand eta Lovejoy, 2011).

Sistema monoaminergiko zentralaren funtzioa ere berebizikoa da estres erantzunean, garunak estimulu estresagarriak interpreta ditzan laguntzen baitu. Alde batetik, mehatxu egoerek sistema noradrenergikoa aktibatzen dute, eta honek inguruko estimuluen aurrean, arreta, erreaktibitatea, informazio sentsorialaren prozesamendua eta erantzun motorea areagotzen ditu. Bestetik, sistema dopaminergikoaren aktibazioak jokabide erantzunak planifikatzen eta arreta estimulu egokietara ardatzen laguntzen du. Sistema serotoninergikoa alde zuzeneko aurretiko antsietate jokabideekin erlazionatzen da, eta alarma egoeretan erne egotea ahalbidetzen du (Joëls eta Baram, 2009)

Bestalde, estres hormonon ekintzak funtzio immunea handitu zein gutxitu dezake estresore motaren, maiztasunaren, iraupenaren eta askatutako estres hormonon arabera. Estres akutuak zelula immunitarioen garraioa sustatzen du erantzun inflamatorioa eraginez, gatazkan gerta daitezkeen zauriak azkar orbantzeko prestatzen du organismoa. Etengabeko HPA eta GR aktibazioa barne hartzen duten estresore luzeek berriz, ekintza inmunosupresorea izan dezakete immunitate hartuan GR transkripzioaren ekintza antiinflamatorioa medio (Bekhbat eta Neigh, 2018), jarduera immunitarioak kontsumituko lukeen energia beste behar batzuetarako aurrezte ahalbidetuz (Dhabhar, 2003).

1.2 DEPRESIOA ETA ESTRES SOZIALA

1.2.1 DEPRESIOA

Azken urteotan, nahasmendu psikiatrikoen artean depresioaren intzidentzia eta prebalentzia bereziki nabarmendu dira, munduan 359 milioi pertsona inguruk pairatzen dutela estimatzen delarik. Depresioa XXI. mendeko buru-nahasmendurik ohikoena da, eta nozitzen duenari eragiten dion higadura dela eta, gaur egun, ezgaitasun kausa nagusia da. Ugaritzen doa gainera, 2005etik %18,4 hazi baita bere prebalentzia, eta datozen urteetan joerak gorantz jarraituko duela uste da (World Health Organization, 2017). Komorbilitate eta hilkortasun tasa altuak aurkezten ditu depresioak, eta substantzien kontsumo gehiegikeriaren eta jokabide suiziden arrisku faktore esanguratsua da. Depresioak pertsonaren kemenean eragiten duen gainbehera dela eta, funtzionaltasun eta produktibitatean pisu handia du, osasun galera eragiteaz gain galera ekonomikoak ere eraginez (Curran, Knapp, McDaid, Tómasson eta Group, 2007; Sobocki, Jönsson, Angst eta Rehnberg, 2006).

Depresioak biztanlerian duen eragin horren azpian, sufrimendu handia eragiten duen sintomatologia dago. Amerikako Elkarte Psikiatrikoaren arabera (APA), depresio nagusiaren sintomen artean aldarte depresiboa (tristea, esperantzarik gabea), plazerarekiko eta edozein jarduerarekiko interes gutxitua edo interes eza, apetitua aldatzea, gorputz-pisua galdu edo irabaztea, insomnia eta hipersomnia, jarduera psikomotore aztoratua edo mantsotua, unadura eta kemen falta, ezgaitasuna eta erruduntasun sentimenduk, pentsatzeko,

kontzentratzeko edota erabakiak hartzeko gaitasun murriztua, heriotzaren inguruko pentsamendu errepikakorrak edota ideia nahiz saiakera suizidak daude (DSM-5, 2014).

1.2.2 ESTRES SOZIALA ETA DEPRESIOAREN ARTEKO ERLAZIOA

Gizaki modernoak bere ingurunea aldatu eta harrapakarien moduko mehatxu fisikoak bere bizimodutik at utzi dituen heinean, estresoreen izaera erabat aldatu da. Egun, arrisku fisikoak topatzeko aukera urria da, estresore ugariak egoera sozialei erlazionatutakoak direlarik. Giza-fisiologia ez da ordea giza-ingurumenaren abiadura berean aldatu, eta organismoak egoera sozial bat mehatxagarritzat hautematen duenean – izan sinbolikoa, fisikoki errealala ala ustezkoa– “borroka edo ihes” mekanismoarekin erantzuten jarraitzen du. Beraz, hondamendi natural edota gerren moduko egoera traumatikoez gain, dibortzioa, banatzea, lana galtzea edota gertuko baten heriotza bezalako egoera sozial gatazkatsuek norbanakoaren baitan egokitze prozesu bat eskatzen dute. Gorputza borroka edo iheserako prestatzen da, baina testuinguru sozialean, barne-erreakzio hori kanporatzea ez da ohikoena izaten, eta gorputza sekula iritxiko ez den ekintzaren zai geratzen da (Sandín, 2003).

Estres erantzun horrek, aktibatuta luze irauten duenean, ahitzea eta zama alostatikoa eragiten dizkio subjektuari, maila fisiko nahiz emozionalean (McEwen, 2004). Giza organismoak estresore sozial eta psikologikoetara egokitzeko ezintasuna duenean, zenbait gaixotasun ager daitezke, eta horien intzidentzia, larritasuna eta eboluzioa estresorearen ezaugarriek baldintzatuko dute (Matheson et al., 2006; McEwen, 2008). Estresore sendoenak, kronikoak, aurretik jakin-ezinak eta izaera sozialekoak direlarik (Bjorkqvist, 2001). Estres sozialari lotutako patologien artean, gaixotasun kardiobaskularrak, obesitatea, ultzera peptikoak, buruko mina, asma eta depresioa daude, besteak beste (McEwen, 2004; Sandín, 2003).

Are gehiago, estres soziala hartzen da depresioaren faktore etiologiko nagusitzat (Blatt, 2004; Kessler, 1997; Patten, 1999). Izan ere, depresio gertakaria pairatu duten pazienteak eta kontrol osasuntsuak konparatuz, lehenek gertakariaren aurretik 2,5 bider bizipen estresagarri gehiago izan dituzte batez beste (Hammen, 2005), eta bizi-gertakari estresagarriek depresio nagusia garatzeko arriskua 1,4 aldiz handitzen dute (Risch et al., 2009). Kasurako, bazterketa soziala jasateak %21,6ean handitzen du nahasmendu depresiboak garatzeko aukera (Kendler, Hettema, Butera, Gardner eta Prescott, 2003). Gainera, tratamendu antidepressiboarekiko erresistentziarekin lotu da estres egoeran jarraitzea (Amital, Fostick, Silberman, Beckman eta Spivak, 2008), pronostiko txarragoarekin (Gilman et al., 2013) eta birgaixotze eta errejidiba ratio

altuagoekin (Harkness, Theriault, Stewart eta Bagby, 2014; Monroe eta Harkness, 2005).

Hala eta guztiz ere, kontuan izan behar da subjektu bakoitzak ez duela berdin erantzuten estres egoera berberaren aurrean. Erantzun indibidual horrek ondorio ezberdinak eragiten ditu organismo bakoitzean, eta patologia ezberdinak garatu ahal daitezke horrela. Ezberdintasun indibidual horiek faktore askoren mende daude. Ikerlari gehienak bat datoz bizi-gertaera estresagarriek faktore genetiko edota psikologiko sentiberagoak dituzten pertsonetan nahasmenduen agerpena erraztu dezaketela adieraztean (Kemeny eta Laudenslager, 1999; Pearlin, Schieman, Fazio eta Meersman, 2005). Esate baterako, estresari aurre-egiteko moduan dauden ezberdintasun indibidualek bere efektuaren intentsitatea aldatu dezakete eta aurre-egite desegokia duten subjektuetan nahasmenduak agerrarazi (Gómez Lázaro et al., 2011, Olff, Langeland eta Gersons, 2005; Pérez-Tejada et al., 2013).

Horretaz gain, aurrerago sakonduko den moduan, estres erantzuna sexuaren arabera ezberdina izan daiteke, estres erantzuna piztu dezakeen estresorea ezberdina izan baitaiteke, baita erantzunaren fisiologia ere. Ingurune faktoreek, faktore pertsonalek, kulturelek, maila-sozialekoek, eta jokabide faktoreek, rol bideratzaile eta modulatzailea betetzen dute estres fisiologikoaren zein jokabide erantzunaren baitan (Cavigelli eta Chaudhry, 2012). Estres erantzunak eta depresio nagusiak ezaugarri asko dituzte komunean, bietan parte hartzen duten garun-zirkuitu eta

SARRERA

Depresioa eta estres soziala

bitartekariak bat egiten baitute (Gold eta Chrousos, 2002). Horregatik, estresak depresioa zein aktibazio bideren bitartez induzitu dezakeen jakiteko, beharrezko da prozesu fisiologikoen azpian datzaten biomarkatzaileak ikertzea.

1.3 DEPRESIOAREN OINARRI BIOLOGIKOAK

Depresioak gizartean eta pertsonen osasun eta bizi kalitatean eragiten duen kaltea larria bada ere, nahasmendu konplexu honen azpian datzan fisiopatologia ezezaguna zaigu oraindik, eta egungo tratamendu antidepressiboek asko dute hobetzeko (Collins et al., 2011). Ildo horretatik, depresioaren diagnosi kliniko objektiboa egiteko ez da biomarkatzaile zehatzik ezagutzen (Jentsch et al., 2015) eta, oro har, lehen lerroko tratamendu antidepressiboen erremisio ratioa, farmakoak eta terapia kognitibo-konduktuala kontuan izanda, %60–%70ekoa da (Rush et al., 2006).

Aldagai biologiko (genetiko, biokimiko, neuroendokrino) eta psikosozialen (bizi-gertaerak, ikasitako indefentsioa, aldagai kognitibo-konduktualak) arteko konbinazioa gertatzean abiarazi daiteke depresioa.

Jarraian, depresio nahasmenduen etiopatogenian parte hartzen duten hipotesi biologikoak azalduko dira.

1.3.1 HPA ARDATZAREN HIPOTESIA DEPRESIOAN

Depresioaren patogenesiari buruzko teoria indartsuenetako batek HPA ardatza du oinarri (Dinan, 1994). HPA ardatzaren desdoitzeak sintomatologia depresiboaren agerpen eta garapenean parte hartzen duela ikusi da (Hammen, Kim, Eberhart eta Brennan, 2009; Holsboer,

2000; Hsu, Langenecker, Kennedy, Zubieta eta Heitzeg, 2010; Kara, Yazici, Güleç eta Ünsal, 2000). Depresioa duten pazienteen %81-ak, estreinakoz depresio-gertakaria pairatu aurretik, estres handia bizi izana adierazten du (Parker, Schatzberg eta Lyons, 2003), eta estresagatiko glukokortikoide maila altuek depresio-gertakariak abiarazi ditzaketela aditzera eman da (Hammen, 2005). Esaterako, Cushing sindromea duten pazienteek (hiperkortisolemia), koadro depresiboa aurkeztu dezakete (McEwen, 2007), baita depresioaren intzidentzia-tasa bereziki handia ere (Sonino eta Fava, 2002). Halaber, depresio nagusia duten paziente gehienek kortisol maila altuak aurkezten dituzte plasman, gernuan eta likido zefalorrakideoan (LZR) (Belmaker eta Agam, 2008; Parker et al., 2003; Villanueva, 2013), baita guruin adrenalen eta pituitarioaren tamaina handiagotua ere (Holsboer eta Barden, 1996). Paziente hauetan, LZR-en CRH gehiago aurkitzea ohikoa da (Arató, Bánki, Bissette eta Nemeroff, 1989) eta CRHren administrazio exogenoaren aurrean ACTH erantzun gutxitua izaten dute (Wong et al., 2000). Era berean, *post mortem* analisisien arabera, deprimitutako pertsonetan nukleo parabentrikularreko CRH espresio genikoa handiagoa izaten da (Binder eta Nemeroff, 2010; Raadsheer et al., 1995). CRH areagotuarekin lot daitezkeen depresio jokabide-sintomak honakoak dira: antsietatea gehitzea, inguruko estimuluei erantzuteko gaitasuna galtzea, asaldura psikomotoreak eta loarenak, apetitua eta libidoa galtzea eta narriadura kognitiboa (Gold eta Chrousos, 2002). Gainera, animalietan, glukokortikoideen administrazio kronikoa depresio eredu gisara erabili da (Krishnan eta Nestler, 2008).

Depresioa-motako egoera eragiteko erabiltzen den norgehiagoka sozialaren animalia ereduari dagokionean, subjektu esperimentalek ACTH eta glukokortikoide maila altuekin eta guruin adrenal handituekin erlazonatutako HPA ardatzaren disfuntzioa adierazten dute (Avitsur, Stark eta Sheridan, 2001; Blanchard, 1995; Saltzman, Prudom, Schultz-Darken, Wittwer eta Abbott, 2004).

Animalia estresatuetan nahiz paziente deprimituetan, dexametasona supresioaren testak HPA ardatzaren atzeraelikadura negatiboa erregulatzeko gaitasun eza agerian uzten du, eta fenomeno hau garun egitura ezberdinetako GR eta MR-en funtzioa gutxitzea medio gertatzen dela uste da (Belmaker eta Agam, 2008; Florian Holsboer, 2000; Reul et al., 2000; Villanueva, 2013). Atzera berriz, tratamendu antidepressibo kronikoak deprimitutako pazienteen HPA ardatzaren aktibitatea bere onera itzul dezake (Heuser et al., 1996). Izan ere, garunean kokatutako GR eta MR-en funtzionalitatea areagotzen dute, hauek, glukokortikoide maila altuen aurrean, HPA ardatzeko aktibitate normala berrezarri dezaten (Bjartmar et al., 2000; Ratka, Sutanto, Bloemers eta de Kloet, 1989).

1.3.2 MONOAMINEN HIPOTESIA DEPRESIOAN

Hipotesi monoaminergikoaren arabera, depresioa serotonina (5-HT), NA eta dopamina (DA) gutxiegitasuna dela eta sortzen da (Charney, 1998; Hirschfeld, 2000). Ildo horretatik, egun erabiltzen diren farmako antidepressibo gehienek monoamina horien hartzaileetan edo garraiatzaileetan dute eragina, serotoninarenetan bereziki (Stahl, 2013). Nerbio sistema zentralako (NSZ) aktibitate serotoninergikoa gutxitzeak depresio nagusia pairatzeko arriskua areagotzen duela iradoki da, izan ere, estresore akutuek sistema serotoninergikoa aktibatu ohi dute, eta honek egokitzea errazten du (Blanchard et al., 1991). Estres errepikakorra jasatean ordea, aktibitate serotoninergikoaren gutxiegitasuna eman daiteke azkenean (Van Praag, 2004). Serotonina birkaptazioaren inhibitzaile selektiboek (SBIS) 5-HT mailak igo ditzakete, eta efektu hori sintoma depresiboak gutxitzearekin lotu da, errudun sentimendua, beldurra, antsieatatea, oldarkortasuna eta suminkortasuna tarteko (Stahl, 2013).

Noradrenalinari dagokionean, funtzionalki, gogo-aldartea egonkortzearekin, logura erregulatzearekin, alerta eta aktibazioarekin eta sintomatologia depresiboa has dezaketen estresoreen aurreko erantzunekin lotu da. Noradrenalinaren bixurgatzearen inhibitzaile selektiboak (NBIS) eraginkorrak dira honako depresio sintomen aurrean: animo egoera depresiboa, interes falta, energia eskasia, antsietate somatikoa, nork bere burua gaitzestea, etsipena eta errudun

sentimendua. Gainera, NBIS antidepressiboek serotoninarena inhibitzen dutenek baino emaitza hobek erakutsi dituzte motibazio eta errendimendu testetan (Stahl, 2013).

Aktibitate dopaminergikoaren gutxitzea anhedoniarekin, motibazio eta interes faltarekin lotu da depresio egoeran. Dopaminaren bide mesokortikolinbikoak, acumbens nukleoak bereziki, plazeraren erregulazioan parte hartzen duela uste da. Dopamina hartzailen antagonistak unadurarekin erlazionatu dira gizakietan (Goodale, 2007).

Depresioaren hipotesi monoaminergikoa, 5-HT eta NA-ren birkaptazioa (imipramina) eta katabolismoa (iproniazid) inhibitzen zuten konposatuek efektu antidepressiboa zutela antzeman zenean garatu zen (Hirschfeld, 2000; Mulinari, 2012). Hortik ondorioztatu zen 5-HT eta NA gutxiegitasunak depresioa eragin zezakeela, antidepressiboen xede ekintza modura 5-HT eta NArekin eskuragarritasun sinaptikoa areagotzea proposatu zen. Hala eta guztiz ere, badira 5-HT maila baxuen hipotesia zalantzan jartzen duten egileak (Andrews, Bharwani, Lee, Fox eta Thomson, 2015; Fischer, Jocham eta Ullsperger, 2015; Lacasse eta Leo, 2005; Racagni eta Popoli, 2008). Izan ere, antidepressiboek 5-HT kontzentrazioa azkar igotzen badute ere, efektu klinikoa ez da berehalakoa. Hori dela eta, azken urteotan, depresioaren hipotesia monoamina kontzentraziotik monoaminen hartzailaetara berbideratu da. Antidepressiboek beren efektua hartzaille serotoninergikoen bidezko gene transkripzioa eta proteinen sintesia medio egin lezakete, prozesu horrek

hartzen duen denbora, efektu klinikoak agertzeko behar diren bizpahiru asteekin bateragarria baita (Liu, Liu, Wang, Zhang eta Li, 2017).

Bestetik, aipatzekoa da estresak HPA ardatzaren bidez, gutxiegitasun monoaminergikoa eragin dezakeela. Hain zuzen glukokortikoide maila altuek triptofano 2,3-dioxigenasa (TDO) aktibatu dezakete. Entzima hau gibelean, giltzurrunean nahiz garunean aurki daiteke ugaztunetan, eta serotoninaren sintesirako beharrezkoa den triptofanoa kinuereninan katabolizatzen du (Kanai et al., 2009), serotoninaren eskuragarritasuna gutxituz. Zentzu honetan, zahartzaroan kortisol maila basalak altuagoak izaten direla ikusirik (Oxenkrug, 2011; Oxenkrug eta Gershon, 1987), sasoi honetan aurkitzen den depresio arrisku handiak TDO aktibazioarekin zerikusia izan dezakela iradoki da (Oxenkrug, 2010).

1.3.3 SOSTENGU NEUROTROFIKOAREN HIPOTESIA DEPRESIOAN

Depresioaren hipotesi neurotrofikoaren arabera, depresioan, plastizitate neuronala eta sostengu neurotrofikoa murrizten dira. Garunetik eratorritako faktore neurotrofikoa (BDNF), neurotrofinen familian sailkatzen den proteina da, nerbio-hazkuntza faktorearekin (NGF), eta 3- eta 4-neurotrofinekin (NT-3 eta NT-4) batera. Neurotrofinak beharrezkoak dira hazkuntza eta plastikotasun neuronalerako, eta BDNF

da NSZ-ean hedadura handiena duena, hipokanpo eta kortex prefrontalean bereziki ugaria izanik (Hofer, Pagliusi, Hohn, Leibrock eta Barde, 1990; Yan et al., 1997). Garunaren plastikotasuna sostengatzeaz gain, zenbait jokabide eta ikaskuntza seinalizaziotan ere laguntzen du (Duman eta Monteggia, 2006; Monteggia et al., 2004). Hain zuzen ere, BDNFak, eskuratze prozesua eta oroimen-konsolidazioa bezalako funtzio kognitiboen garapenean parte hartzen du (Pang et al., 2004; Woo eta Lu, 2006). Badirudi estres akutuak BDNF mailak areagotzen dituela, estres kronikoak murriztu egiten dituen bitartean (Shi, Shao, Yuan, Pan eta Li, 2010). Igoera akutu hori homeostasi neuronala mantendu ahal izateko mekanismo babesle modura proposatu da (Bruce S. McEwen, 2008). BDNF maila baxuak berriz, plastikotasun neuronal urriarekin eta nahasmendu psikiatrikoen agerpenarekin lotu dira gizakietan (Monteleone, Serritella, Martiadis eta Maj, 2008; Piccinni et al., 2008; Reinhart et al., 2015; van Donkelaar, van den Hove, Blokland, Steinbusch eta Prickaerts, 2009). Halaber, depresio animalia-ereduetan, estresak neurogenesiarenean erregulazioa erasan eta BDNF maila jaitsi dezake (Barrientos et al., 2003).

Estresaren ondorioz askatutako glukokortikoide kontzentrazio handiak hipokanpoa atrofiatu dezakeela ikusi da paziente deprimituetan (Duman, 2004). Horren harira, depresioa garatu heinean, sostengu neurotrofikoa gutxitzen da hipokanpoa kaltetzea erraztuz, eta farmako antidepresiboak aldaketa hori itzularazteko gai izan daitezke (Yu eta Chen, 2011). Tratamendu antidepresibo kronikoak berriz, BDNF espresio zentrala areagotu dezake (Calabrese et al., 2007; Duman eta Monteggia,

2006), eta jokabide asaldurak bere onera ekar ditzake (Tsankova et al., 2006). BDNF administratzeak berak, efektu antidepresiboa izan dezake garun egitura zehatzetan (Krishnan eta Nestler, 2008; Shirayama, Chen, Nakagawa, Russell eta Duman, 2002), eta BDNF antidepresiboekin batera emanda efektu hori are sendoagoa da (Deltheil et al., 2009).

1.3.4 SISTEMA IMMUNITARIOAREN HIPOTESIA DEPRESIOAN

Sistema immunitarioak agente patogenoak suntsitu eta zauriak sendatzea du helburu. Baina birus, bakteria eta zauriak ez dira hantura prozesua piztu dezaketen eragile bakarrak. Hantura erantzunaren berezitasun bat bere izaera aurreratzailerak da, hots, organismoak “borroka edo ihes” egiteko mekanismoa pizten duenean, sortzetiko immunitate zelulak aktibatzen dira, zauririk gertatuko balitz lehenbailehen sendatzeko. Aurrez aipatu moduan, gatazka psikosozialek estres erantzuna martxan jarri dezakete, eta beraz, baita jardura inflamatorioa handitu ere (Audet et al., 2014) eta sistema immunitarioak aktibatuta luze irauten duenean, sintoma depresiboak garatzea errazagoa dela ere iradoki da (Dantzer, O’Connor, Freund, Johnson eta Kelley, 2008). Zenbait egoera sozial gatazkatsu immunitate aktibitate handiarekin eta depresioaren agerpenarekin lotu dira. Esaterako, demenzia duen

ezkontidea zaintzea (Kiecolt-Glaser et al., 2003), alarguntzea (Schultze-Florey et al., 2012), isolamendu-aldi luzeak bizitzea (Yi et al., 2014), lanean egindako esfortzuaren eta sariaren arteko desoreka (Bellingrath, Rohleder eta Kudielka, 2013) eta adin goiztiarrean jasandako esperientzia gatazkatsuak (Slopen, Kubzansky, McLaughlin eta Koenen, 2013). Estresore psikosozialak eragindako hantura prozesuak depresioan agertu ohi diren asaldura neuroendokrino eta neurokimikoak eragin ditzaketela uste da (Maes et al., 2009), beste sistema batzuei ere eraginez. Estres sozialak sistema immunitarioaren bidez beste sistemetan eragin ditzakeen aldaketen mezulari modura zitokinak proposatu dituzte psikoneuroimmunologiaren esparruko hainbat lanek (Dowlati et al., 2010; Howren, Lamkin eta Suls, 2009).

1.3.4.1 Psikoneuroimmunologia

Psikoneuroimmunologia garunaren, jokabidearen eta immunitate sistemaren arteko harremana aztertzen duen esparrua da, eta faktore psikosozialek, jokabide-mekanismo eta mekanismo biologikoekin nola interakzionatzen duten aztertzen du osasun-gaixotasun orekaren testuinguruan (Zachariae, 2009). Izan ere, azken hiru hamarkadetan egindako ikerketek adierazten dutenez, garunak immunitate prozesua erregulatzen du, eta atzera berriz, immunitate sistemak funtzio neuronal eta endokrinoak erregulatu ditzake, jokabideari ere eraginez. Testuinguru

horretan, zitokinek berebiziko garrantzia dute, sistema ezberdinen arteko bitartekari baitira (Raison, Capuron eta Miller, 2006).

Zitokinak, molekula proteiko mezulariak dira eta maila periferiko naiz zentrolean aurki daitezke. Linfozito eta makrofagoek jariatzen dituzte nagusiki, eta mintzeko hartzaile espezifikokoak induzituz, zelulen arteko komunikazioaz arduratzen dira. Aktibitate biologiko anitza duten arren, oro har, bi zitokina multzo nagusi ezberdintzen dira: proinflamatorioak eta antiinflamatorioak.

Zitokina proinflamatorioak hanturarekin, immunitatearen aktibazioarekin eta ezberdintze edo heriotz zelularrekin erlazionatzen dira. Immunitate ez-espezifikokoak bideratutako hantura prozesuan zuzenean parte hartzen duten zitokinak 1 Interleukina (IL-1), 6 Interleukina (IL-6), Interferonak (IFN- γ) eta Tumorearen Nekrosi Faktorea (TNF- α) dira. Hala ere, IL-6 immunitate espezifikotan ere aritzen da B7 linfozitoen faktore autokrino gisa. 2 Interleukina (IL-2) eta 5 Interleukina (IL-5) zitokina proinflamatorioak aldiz, immunitate zelularrekin erlazionatzen dira. Bestetik, 8-Interleukinak (IL-8), bere kontzentrazioaren arabera funtzio proinflamatorioa edo antiinflamatorioa bete dezake (Kronfol eta Remick, 2000).

Zitokina antiinflamatorioak berriz, erantzun immunea indargetzeaz arduratzen dira, hala nola, 4 Interleukina (IL-4), 10 Interleukina (IL-10) eta 3 Interleukina (IL-3). IL-10 zitokinak efektu zabal eta konplexua du hantura eta immunoerregulazioan, izaera pleiotropikoa duen zitokina baita, hau

da, bere geneak fenotipo eta ezaugarri ezberdinak kodetu ditzake. Horrela bada, zenbait zitokina proinflamatorioen espresioa gutxitu dezake (Akdis, Joss, Akdis, Faith eta Blaser, 2000; de Waal Malefyt, Abrams, Bennett, Figdor eta de Vries, 1991) eta B zelulen biziraupena sustatu. Horretaz gain, zelulen proliferazio, ezberdintze, apoptosi eta onkogenesia parte hartzen duten seinalizazio bideetan parte hartzen du (NF- κ B eta JAK-STAT bideetan).

Maila periferikoan, zitokinen kantitatea aktibazio immunologikoaren egoeraren mende dago. Hantura kroniko naiz akutuan, immunitate sistemako zelulen aktibitatea gehitzen da, IL-1, IL-6 eta TNF- α bezalako zitokina proinflamatorioen eta IL-10en moduko zitokina antiinflamatorioen ekoizpena areagotuz.

Zitokinak molekula handiak direnez, ezin dute hesi hematoentzefalikoa beren kasa gurutzatu, baina beren seinaleak komunikabide humoral, neural eta zelularren bidez hel daitezke garunera (Capuron eta Miller, 2011; Raison et al., 2006):

- Hesi hematoentzefalikoa osorik ez dagoen gunetatik pasa daitezke, hala nola plexu koroideotik eta organo zirkunbentrikulatuetatik.

- Garun endotelioko molekula garraiatzaile espezifikoaren bitartez zitokina kantitate txikiak erregulazio neuroendokrinoan parte hartzen duten zirkuituetara heltzen dira.

- Zitokinek zelula endotelialak aktibatu, eta hauek bigarren mezulariak askatzen dituzte, hala nola, prostaglandinak eta oxido nitrikoa.

- Zitokina seinaleak nerbio zuntz aferentearen bidez iristen dira, nerbio bagoaren bidez esaterako.

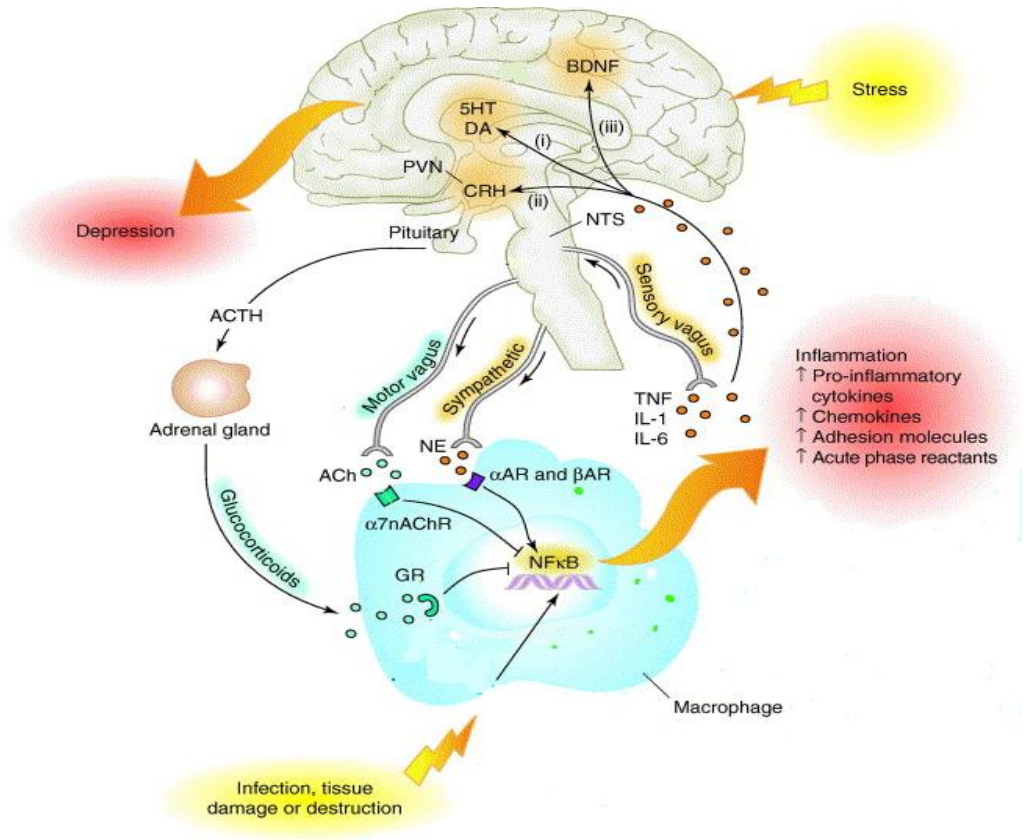
- Periferian aktibatutako monozitoak garun parenkimara sar daitezke.

Zitokina proinflamatorioen seinalea aipatutako bide horietatik garunera heltzen denean, seinalizazioa garuneko zitokina sarean transmititu eta anplifikatu egiten da, maila zentrolean zitokinen sintesia estimulatuz (Layé, Parnet, Goujon eta Dantzer, 1994). Zitokinak ekoizteaz arduratzen diren garuneko eremuak asko dira: eremu zirkunbentrikularrak, hipotalamoia, hipokanpoa, zerebeloa, gongoil basalak eta garun-enborreko nukleoak (Anisman eta Merali, 2002; Kronfol eta Remick, 2000). Zehazki, eremu horietako neuronetan eta glian gauzatu daiteke sintesia (Freidin, Bennett eta Kessler, 1992), astrozitoek eta mikroglia zitokinentzako hartzaile espezifikoak dituztelarik (McGeer eta McGeer, 1995).

Zitokina proinflamatorio zentralen (IL-1, IL-6 y TNF- α) funtzio zehatza zein den ez dago argi oraindik, baina neuronen garapenean eta plastizitatean parte hartzen dutela uste da, baita sinaptogenesisian eta ehunen konponketan ere (Beattie et al., 2002). Hala ere, jakin badakigu zitokinek efektu desiragaitzak eragin ditzaketela funtzio neuronalean

kontzentrazio altuetan sintetizatzen badira edota beren esposizio-aldiak luze irauten badu (Anisman eta Merali, 2002; Hayley, Poulter, Merali eta Anisman, 2005).

Aurrekoaren harira, estres psikosoziala bezalako estresore ez immunologikoek garunean zitokinen espresioa induzitu dezaketela ikusi da, eta horrek, zitokina hauen seinalizazioak estresaren erantzun neuroendokrinoan eta jokabide erantzunean eragin dezakeela iradokitzen du (Bierhaus et al., 2002; Pérez-Tejada et al., 2016; Miller, Maletic eta Raison, 2009) (ikus 2. Irudia).



2. irudia. Estresaren, immunitatearen eta depresioaren arteko elkarrekintza.

NF-κB aktibatzen da hantura erantzunean, TNF-α, IL-1 eta IL-6 zitokina proinflamatorioak askatuz. Zitokina hauek, goian aipatutako bideetatik, hesi hematoentzefaliko zeharkatzen dute. Behin garunera iritsitakoan, zitokina seinaleek depresioaren garapenean zerikusia duten bideetan parte hartzen dute, hala nola: (i) 5-HT eta DA neurotransmisoreen metabolismoa erasanez, (ii) nukleo parabentrikularreko CRH aktibazioa medio, ACTH eta kortisola askaraziz, eta (iii) BDNF bezalako faktore trofikoak erasanda plastizitate sinaptikoa etenez. Ingurune estresoreek hantura erreakzioa sustatzen dute (NF-κB), nerbio sistema sinpatikoko erantzun eferentea areagotuta NA askatzen da, eta hau α eta β adrenohartzailei (αAR eta βAR) batzen zaie]. Estresoreek sarrera motore bagalaren inhibizioa ekiditen dute [azetilkolina askarazten dute (ACh) eta hau azetilkolina hartzaile nikotinikoaren (α7nAChR) α7 azpiunitateari lotzen zaio]. (Raison et al., 2006. Aldatua).

1.3.4.2. Zitokinak, gaixotasun jokabidea eta depresioa

Lesio, gaixotasun edota infekzio baten aurrean askatzen diren zitokinek, bizirautea helburu duten zenbait jokabide eragiten dituzte. Fenomeno horri “gaixotasun jokabidea” deritzo eta zitokina proinflamatorio periferikoek garunean zitokina seinalizazio sorta bat estimulatzen dutenean gertatzen da (Dantzer et al., 2008). Gaixotasun jokabidea gertatzean, jokabide batzuk gutxiagotu egiten dira, hala nola, jarduera esploratzailea, psikomotorea, sexuala, elikatzea eta higiene pertsonala zaintzea, kontzentrazio eta ikasteko gaitasuna, eta beste jokabide batzuk areagotu; minarekiko sentikortasuna, lo asaldurak eta estimulu afektiboen aurrean erantzun aztoratuen agerpena (beldurra, anhedonia eta elkarreragin sozialenganako interes eza) dira (Dantzer, 2001; Kelley et al., 2003). Erronka immunologikoaren aurrean zitokinek eragindako jokabide horiek oinarri egokitzzailea dutela uste da, gizakiek infekzioaren aurrean energia eta baliabideak gordetzea dute helburu, susperraldia errazten baitute, bizirauteko aukerak gehituz. Era berean, jokabide aldaketa hauek estres psikologikoari aurre egiteko egokitze erantzunak direla uste da, ahultasun fisikoak predazioa ez ezik gatazka sozialak ere ekiditen baititu (Dantzer eta Capuron, 2017).

Gaixotasun jokabidean gertatzen diren ezaugarri hauek depresioa pairatzen duten pazienteen sintomen antzerakoak dira, eta immunitate sistemak askatutako zitokina proinflamatorioek eragindako jokabide aldaketak, aldaketa neuroendokrino eta monoaminergiko zentralak,

depresio nahasmenduetan aurkitzen diren aldaketen oso antzerakoak direla behatu da (Schiepers, Wichers eta Maes, 2005). Hori dela eta, zitokinek depresioan izan dezaketen parte hartzeari arreta berezia eman zaio, eta nahasmenduaren eta zitokina proinflamatorioen artean erlazio esanguratsua dagoela adierazten dute ikerlanek, IL-6, TNF- α eta proteina C erreaktiboa depresioan markatzaile inflamatorio modura proposatzera iritxiz (Dowlati et al., 2010; Haapakoski, Mathieu, Ebmeier, Alenius eta Kivimäki, 2015; Liu, Ho eta Mak, 2012). Gainera, hantura erantzun kroniko bereizgarria aurkezten duten gaixotasunetan, artritis erreumatoidea kasurako, depresio sintomak aurkezten dituzte pazienteek, eta minbiziari eta C hepatitisari aurre egiteko pazienteei zitokina proinflamatorioak administratu zaizkienean, sintomatologia depresiboa agertu da (Schiepers et al., 2005). Antidepressiboekin itzulgarria gertatu da osteria sintomatologia hori (Bull et al., 2009). Animaliekin egindako ikerketek ere, zitokina proinflamatorioen administrazioak estresaren ondoriozko depresio jokabide edota gaixotasun jokabide parekoak eragiten dituela adierazten dute. Jokabide hauek zitokinen administrazioa bukatzearekin bat desagertzen dira (Dantzer et al., 2008).

Aldiz, zitokina antiinflamatorioek funtzio babeslea izan dezakete depresioan, tratamendurik hartzen ez zuten paziente deprimituetan serumeko IL-10 mailek sintoma depresiboekin negatiboki korrelazionatzen baitzuten (Dhabhar, 2009). Zentzu berean, zenbait jokabide probetan agertutako jokabide depresiboak IL-10 injektatuta itzulgarriak dira (Mesquita et al., 2008; Roque, Correia-Neves, Mesquita,

Palha eta Sousa, 2009). Ildo horretatik, zitokina proinflamatorio eta antiinflamatorioen arteko orekak, depresioaren fisiopatologian pisu handia eduki dezakeela proposatu da (Kim et al., 2007; Taraz et al., 2012)

Bestalde, 2. irudian ageri den moduan, zitokinek jokabidean eragin ahal izateko zenbait mekanismo identifikatu dira: neurotransmisoreen funtzioan eragitea, plastizitate neuronalean edota aktibitate neuroendokrinoan.

1.3.4.3 Zitokinek depresioa eragiteko mekanismo posibleak

1.3.4.3.1 Zitokinak eta HPA ardatza

HPA ardatzaren jardueran asaldura eragin dezakete zitokinek, paziente depresiboetan behatutakoaren antzekoa den sistemaren hiperaktibitatea eraginez (Capuron eta Dantzer, 2003). Izan ere, garunaren eta immunitate sistemaren arteko komunikabide nagusietakoa da HPA ardatza. Batetik, IL-10 zitokina antiinflamatorioak HPA ardatzeko maila ezberdinetan kortikosterona ekoizpena erregulatu dezake (Tu et al., 2005). Bestetik, IL-6, TNF- α eta IL-1 β zitokina proinflamatorioek HPA ardatza aktibatu dezakete, glukokortikoide gehiago askaraziz (Capuron et al. 2003; Besedovsky eta Rey 1996). Glukokortikoide horiek, estres egoera akutuan, zelula immunitarioetan dauden hartzaile glukokortikoideekin

batuko dira, atzeraelikadura mekanismo inhibitzailea martxan jarri eta zitokinen espresioa eta hantura gutxituz (Herman eta Cullinan, 1997). Baina, estres kronikoaren ondoriozko glukokortikoideen areagotze kronikoak, immunitate aktibitatearen gehikuntza eragin dezake, ziurrenik glukokortikoideekiko erresistentzia garatzen delako (Swaab, Bao eta Lucassen, 2005). Honela azal daiteke paziente depresiboek agertzen duten eta asaldura neuropsikiatrikoetan ohikoa den HPA ardatzeko hiperaktibitatea eta zitokina mailak igotzea (Capuron eta Dantzer, 2003).

1.3.4.3.2 Zitokinak etaIDO entzima

Zitokinek serotoninaren sintesia zein mekanismoren bidez erasan dezaketen aztertutako lanek indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) entzima hartu dute ardatz eskuarki. Hainbat hantura-bide estimulatuz, zitokinek triptofanoa (TRYP) metabolizatzen duen entzima hau aktibatzen dute. Triptofanoa serotoninaren aminoazido aitzindaria da, baina IDO entzima aktibatuz gero, triptofanoa kinureninan (KYN) bilakatzen da, neurotransmisiorako behar den serotoninaren eskuragarritasuna murriztuz (Schwarcz eta Pellicciari, 2002). Capuronek gidatutako ikerketa batean (2002), INF α bidezko immunoterapia tratamendua 26 egunez eman ostean, minbizia zuten pazienteetan erlazio lineala aurkitu zen triptofanoaren maila plasmatikoa jaistearen eta depresio sintomen puntuazioaren artean. Hala ere, datu guztiak ez datoz bat; INF α -rekin

trataturako pazienteei eginiko ikerketa batek adierazi zuen IDO entzimaren aktibitateak odoleko triptofano mailak gutxiagotuta ere, maila zentralak egonkor mantentzen zirela (Raison et al., 2010). Beste autore batzuek behatu zuten, IDO entzima blokeatzeak lipopolisakarido (LPS) bidez induzitutako depresio-motako jokabideak gutxitu zituen serotoninaren aktibitatean eraginik izan ez arren, eta kinurenina administrazioak, dosiaren arabera depresio-motako jokabideak eragin zitezakeela aurkitu zuten (O'Connor et al., 2009). Aurkikuntza honen ildotik, kinureninaren metabolitoek depresioaren sorreran serotoninarekiko independenteki jokatzeko ote duten iradoki da. Gainera, C hepatitisaren aurka INF α tratamendua jasotako pazienteek kinurenina proportzio handiagoa zutela aurkitu zen, depresio sintomen agerpenarekin batera (Capuron eta Miller, 2004).

Kinurenina, astrozitara edo mikroglia garraiatu, desberdin degradatuko da:

Astrozitoetan, kinurenina azido kinureniko bihurtzen da. Azido kinurenikoa neurobabeslea da eta NMDA (N-metil-D-aspartato) hartzaile glutamatergikoen antagonista moduan jokatzeko du, glutamatoaren askapena inhibituz (Wu et al., 2007). Mikroglia aldiz, 3-hidroxi kinureninan (3-HK) eta azido kinolinikoan degradatzen du kinurenina, bi produktuak ere neurotoxikoak direlarik, erradikal oxidatiboak sortzeko gaitasuna baitute, eta NMDA hartzailearen agonista moduan jokatzeko baitute. Azido kinolinikoak glutamatoa askatzea

eragiten du, NSZ-ren exzitotoxizitatea handituz (Schwarcz eta Pellicciari, 2002). Honela, Müller eta kideek (2008) kinureninaren degradazioak mikroglia duen efektua depresioa garatzeko mekanismo gisara proposatu zuten (ikus 3. irudia).

Baina badirudi mikroglia ez dela kinurerina produktu neurotoxikoetan degradatzen duen elementu bakarra: garunera erakarritako makrofago periferikoek kinurenina azido kinoliniko bihurtzeko mikroglia baino 20 aldiz gaitasun handiagoa dutela proposatu da. Proposamen hori indartuz, INF α rekin tratatutako pazienteetan, LZR-an kinurenina eta azido kinolinikoaren gehikuntzak sintoma depresiboak areagotzearekin korrelazionatzen du, baita monozito periferiko aktibatuak garunera erakartzeaz arduratzen diren monozitoen proteina kimiotaktikoekin ere (MCP-1) (Raison et al., 2010).

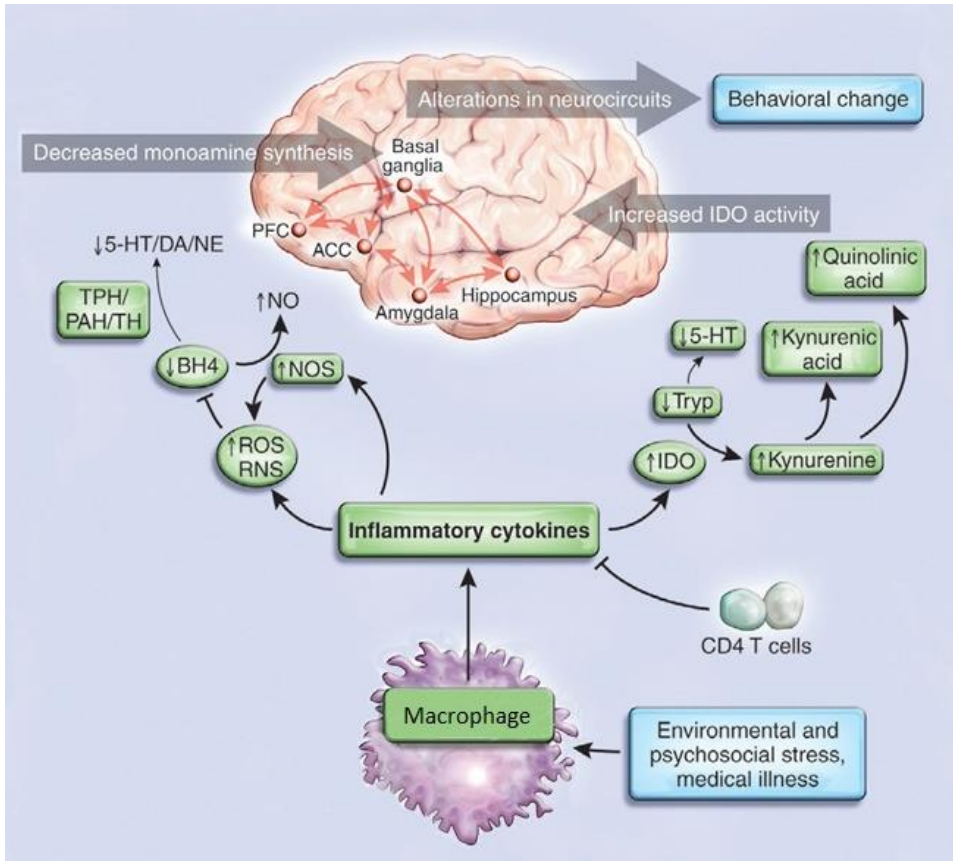
Degradazio bidea edozein dela ere, efektu zitotoxiko posible horiek animo egoera erregulatzeaz arduratzen diren garuneko eremu batzuetan zelulen galera eragin dezakete. Esaterako, neuronen, astrozitoen eta oligodendrozitoen galera (Li et al., 2008). Kalte hori sarri behatu da garun egitura desberdinetan (Hamidi, Drevets eta Price, 2004).

1.3.4.3.3 Zitokinak eta BH4 kofaktorea

Depresio prozesuan parte har dezakeen beste mekanismo posible batek, monoamina neurotransmisoreen (5-HT, DA, adrenalina eta NA)

sintesian parte hartzen duen entzimen kofaktore kritikoarekin du zerikusia, 5,6,7,8-tetrahidrobiopterinarekin (BH4), alegia. (Felger eta Lotrich, 2013; Haroon, Raison eta Miller, 2012; Neurauder et al., 2008). NOS (oxido nitriko sintasa) entzimaren bidez arginina oxido nitriko (NO) bihurtzeko prozesuan ere parte hartzen du BH4-ek. Zitokina proinflamatorioek, BH4ren erabilera areagotu dezakete NOS entzima estimulatzea medio, depresioan parte hartu dezaketen prozesuak martxan jarriz (Raison eta Miller, 2013). Batetik, fenilalanina hidroxilasa (PAH), triptofano hidroxilasa (TPH) eta tirosina hidroxilasak (TH) monoaminen sintesirako beharrezko duten BH4 kofaktorearen eskuragarritasuna murriztuko da, ondorioz 5-HT, DA eta NA mailak jaitsiz (Van Amsterdam eta Opperhuizen, 1999). Bestetik, NOren sintesia eta egoera oxidatiboa areagotuko dira oxigeno eta nitrogeno espezie erreaktibo kaltegarriak askatuz (Kitagami et al., 2003). Asaldura guzti

horiek depresioaren patogenesisa erraztu dezakete (Anderson eta Maes, 2013)(ikus 3. Irudia).



3. Irudia. Hanturaren eragina organismoan. Hantura erantzuna aktibatzean, zitokina proinflamatorioak askatzen dira eta hauek, IDO entzimaren eta nitrogeno eta oxigeno espezie errektiboen ekoizpena estimulatzen dute. Ondorioz, kinureninaren metabolito neurotoxikoa askatzen da; azido kinolinikoa. Gainera, monoaminen aitzindari diren triptofanoaren eta tirosinaren eskuragarritasuna gutxitzen denez, 5-HT, DA eta NAre sintesiak murrizten dira. BH4 kofaktorea gutxitzeak fenilalanina hidroxilasa (PAH), triptofano hidroxilasa (TPH) eta tirosina hidroxilasa (TH) entzimen funtzionamendua galarazten du. Ekintza horiek guztiek garuneko zenbait zirkuitutan asaldurak eragiten dituzte (Raison eta Miller, 2013. Aldatua).

1.3.4.3.4 Zitokinak eta BDNF ekoizpena

Egoera fisiologiko normalean, IL-1, IL-6 eta TNF α -k hornidura trofikoan parte hartu eta neurogenesia sustatzen dute, funtzio kognitibo garrantzitsuen funtzionamendu egokia ahalbidetuz (Bernardino et al., 2008; Goshen et al., 2008). Bestalde, NSZ-ean zitokinek eragindako gehiegizko glutamatoak BDNF gutxitzea eragin dezake, eta honek neurogenesia murriztu, oligodendrozito eta astrozitoen apoptosia induzitu, eta interakzio neuronalak eta funtzio kognitibo eta jokabide funtzioak desdoitzea eragin dezake (Gavillet, Allaman eta Magistretti, 2008; Koo eta Duman, 2008). Ondorioz, neurogenesia eragotzi eta portaera depresiboa agertzea erraztu daiteke (Miller eta Raison, 2016; Schwarz eta Bilbo, 2012). LPS emanda eragindako depresio-motako egoeran, BDNF mailak jaistearekin batera, IL-10 mailak ere jaisten dira (Zhao, Zhang eta Pan, 2015). Zentzu horretan, IL-10ari efektu neurotrofiko eta neurobabeslea egotzi zaio exzitotoxizitate egoeran, (Zhou, Bailey-Bucktrout, Jeker eta Bluestone, 2009) eta neuriten hazkuntzan eta sinapsian parte hartu dezake (Chen et al., 2016; Han et al., 2015; Sharma et al., 2011). Era berean, NSZ-eko inflamazioa eragiten duen meningitisaren aurrean, BDNF administrazioak IL-10 maila areagotu dezake hipokanpoan (Xu et al., 2017).

1.4 ESTRES SOZIALA, DEPRESIOA ETA SEXU DESBERDINTASUNAK

Aurrez aipatu moduan, depresioa mende honetako nahasmendu psikiatriko ohikoena da, baina ez die biztanle guztiei berdin eragiten. Ikerketa epidemiologikoen arabera, estresari lotutako psikopatologiak, antsietatea eta depresioa tarteko, ohikoagoak dira emakumeetan gizonezkoetan baino (Kessler, McGonagle, Swartz, Blazer eta Nelson, 1993; Seedat et al., 2009). Zehazki, emakumeek depresioa pairatzeko duten arriskua gizonezkoena baino bi bider handiagoa da: %20-25ekoa emakumeetan eta %7-12koa gizonezkoetan (Bekker eta van Mens-Verhulst, 2007; Busch et al., 2013; Kessler et al., 2008). Sintomatologia depresioa ere ezberdina izan ohi da sexuaren arabera, eta depresioaren aurkako tratamendu farmakologikoen eraginkortasuna txikiagoa da emakumeetan (Dalla, Pitychoutis, Kokras eta Papadopoulou-Daifoti, 2010). Desberdintasun kuantitatibo eta kualitatibo horien azpian sexuaren araberako berezitasun psikosozialak, desberdintasun fisiologikoak eta oinarritzko ikerketan jazotako isuriak egon daitezke.

1.4.1 DESBERDINTASUN PSIKOSOZIALAK ETA JOKABIDE DESBERDINTASUNAK

Depresioaren patogenesisian zerikusia izan dezaketen sexuaren araberako zenbait jokabide ezberdintasun proposatu dira. Estresari aurre egiteko estrategien inguruan, badirudi emakumeen artean nerabegarotik hasita ohikoagoa dela distresari hausnarketa bidez erantzutea, hots,

uneko egoera, afera pertsonal eta sentimenduen inguruan behin eta berriz gogoeta eginez erantzutea. Jokabide mota hau sintoma eta nahasmendu depresiboen agerpenarekin lotzen da (Rood, Roelofs, Bogels, Nolen-Hoeksema eta Schouten, 2009). Beste faktore eragile batek gizon eta emakumeen autokontzeptuarekin du zerikusia. Sexu ezberdintasunak aurkitu dira orientazio interpertsonalaren, harremanen estatusarekiko arduraren eta besteek norbanakoari buruz duten iritziari ematen zaion garrantziaren inguruan. Haurtzarotik hasita, neskek orientazio interpertsonalerako joera handiagoa erakusten dute, nerabezaroan gora egiten duelarik (Zahn-Waxler, 2000). Zentzu berean, estres interpertsonala dela eta depresioa garatzeko aukera handiagoa dute emakumezkoek (Nolen-Hoeksema, 2001).

Depresio sintomen artean berriz, emakumeek apetitua eta pisua irabaztea, hipokondria, somatizazioak eta insomnia gizonen baino sarriago azaltzen dituzte. Depresio sintomekin batera antsietate sintomak aurkeztea ere ohikoagoa da emakumeetan (Cavanagh et al., 2017; Kornstein, 1997; Marcus et al., 2005). Gizonen aldiz, pisua galtzeko eta alkohola eta droga mendekotasunerako jaugin nabarmenagoa dute, baita bulkaden gaineko kontrola galdu eta arriskua-jokabideak hartzeko joera handiagoa ere (Breslau, Schultz eta Peterson, 1995; Cavanagh et al., 2017; Marcus et al., 2008). Sexuaren araberako berezitasun horiek, faktore psikosozialekin, estresoreak ebaluatzeko moduarekin edota estresari aurre egiteko metodo eta baliabideekin egon daitezke erlazionatuta (Cohen eta Yehuda, 2011).

Dena den, depresio nagusiak emakumezkoetan duen intzidentzia handiagoa kultura eta komunitate ezberdinetan errepikatzen da (Seedat et al., 2009) eta, goian aipatu bezala, sintomatologia ere ezberdina da sexu bakoitzean, emakumezkoetan nahasmenduaren larritasuna eta funtzionaltasunean eragiten duen narriadura handiagoak direlarik (Riecher-Rössler, 2010). Horretaz gain, depresioaren aurkako tratamendu farmakologiko kronikoak emakumeetan ez dira gizonezkoetan bezain eraginkorrak (Dalla et al., 2010) eta farmakoen albo-ondorioak jasateko %50-75eko aukera handiagoa dute emakumeek (Shah et al., 2014). Beraz, badirudi arraza, kultura, dieta, heziketa eta beste zenbait faktore sozial eta ekonomikoz gain, aldagai biologikoek ere emakumeek depresioa pairatzeko arrisku handiagoa izatea eragin dezaketela (Albert, 2015). Gizaki zein animaliatan, sexuaren araberako ezberdintasun biologikoak eta jokabide ezberdintasunak aurkitu dira estres erantzunarekin eta depresioarekin erlazionatutako mekanismoetan (Hughes, Dennis eta Beckham, 2007; Kokras eta Dalla, 2017).

Estresari lotutako nahasmenduak ikertzen diharduten zenbait egilek, animalia erduetan subjektu emeak erabiltzeko beharra aldarrikatu dute. Izan ere, nahasmendu psikiatrikoen inguruan arren isuria duten orokortzeak egitea “zientifikoki kaltegarria” izan daiteke, literatura zientifikoa errealitatera egokitzen ez diren ondorioekin betez (Belzung eta Lemoine, 2011; Palanza eta Parmigiani, 2017).

Baina, depresioa eta tratamendu antidepresiboen azpian datzaten mekanismo biologikoak eta jokabideak ikertzeko lan gehienak animalia eredu arrekin osatu dira, sexu aldagaia eta bere ezaugarriak kontuan izan gabe (Beery eta Zucker, 2011; Kreiner et al., 2013; Zucker eta Beery, 2010). Bazterketa orokortu horren arrazoietakoa bat arren emaitzak emeatara orokortu zitezkeenaren ustea izan da. Bestetik, ugalketa zikloa dela eta, emeak intrintsekoki aldakor eta ezegonkortzat hartu dira, eta subjektu emeak erabiltzeak esperimentuak garestitu eta emaitzak aldrebestuko lituzkeela uste izan da (Prendergast, Onishi eta Zucker, 2014; Wald eta Wu, 2010). Horretaz gain, arretan ez bezala, ez dago emeetan estres soziala aplikatzeko prozedura estandarizaturik, subjektu arrekiko lehenespena elikatuz.

Sagu arretan, porrot sozialaren animalia estres-eredua luze eta zabal erabili da depresioaren fisiopatologia aztertzeko. Eredu hau egoiliar-arrotz paradigman oinarritzen da, non subjektuek modu oldarkorrean interakzionatzen duten lurraldearen gaineko dominantzia finkatzeko (Miczek, 1979). Eredu hau etologikoki egokia kontsideratzen da arretan, izan ere, "lehiakortasun sozialaren hipotesia" ren arabera, hierarkia-maila soziala eta baliabideak galtzeak depresio eta antsietateari lotutako aldaketa fisiologiko eta jokabide aldaketak sor ditzake (Price, Sloman, Gardner, Gilbert eta Rohde, 1994; Rohde, 2001; Sloman, Gilbert eta Hasey, 2003). Horrela bada, porrot sozialarekin egindako ikerketek estresari lotutako nahasmenduen azpian datzaten mekanismo batzuk ulertzen lagundu du, baita karraskari arretan tratamendu

farmakologikoak probatzen ere (Chaouloff, 2013; Gómez-Lázaro et al., 2012; Keeney et al., 2006; Kudryavtseva, Bakshantovskaya eta Koryakina, 1991; Levinstein eta Samuels, 2014).

Zenbait ikerketetan, porrot soziala aplikatu zaie emeei, baina arrentzako estresagarri denak ez du zertan emeentzat izan, eta eredu honek erabilgarritasun mugatua erakutsi du karraskari emeetan estres erantzuna pizteko (Haller et al. 1999; Palanza 2001), emeek nekez egiten baitituzte eraso oldarkorrak, kumeak babesten ari ez badira behintzat (Solomon, 2017), eta kumedun eme amekin egindako eruedetan ere ez da arrena adinako estres erantzunik piztu (Jacobson-Pick, Audet, McQuaid, Kalvapalle eta Anisman, 2013). Sagu emeei estres soziala eragiteko eredu bat garatzeko garaian, haien izaera eta jokabide soziala behatu behar da lehenik. Laborategiko karraskari emeek hierarkia soziala finkatzeko garaian jokabide agonista moderatu sorta bat erakutsi badezakete ere (adibidez: pertsekuzioa, azpian hartzea, *grooming* oldarkorra, eta *barbering-a*,) (Clipperton-Allen, Almey, Melichercik, Allen eta Choleris, 2011), sare sozialak finkatzen dituzte beste emeekin, eta “tend-and-befriend” edo zaindu eta lagunak izan estrategia baliatu ohi dute (Taylor et al., 2000; Vegas et al., 2012). Emeen talde atxikimendua sustatzen duen estrategia horrek, emeek beren burua eta kumeak babestu ahal izateko zentzu etologikoa duela uste da. Horrela bada, izaera sozial afiliatzailea dutela kontuan izanda, sare sozialak etetea estresore sozial erabilgarriagoa izan daiteke subjektu hauentzat.

Haller et al.-ek (1999) proposatu zuten lehen aldiz ezegonkortasun sozial kronikoaren estresa (ESKE) arratoietan. Estres-eredu honetan, isolamendu eta taldekatze faseak txandakatzen dira, eta taldekatze faseetan talde osaera aldatzen da. ESKE-k emeek osatutako sare soziala eteten du behin eta berriz, eta taldekatze fase bakoitzean beste egitura hierarkiko berri bat finkatuarazten die. Lehen lan horretan, HPA ardatzean aldaketak eta depresio-motako aldaketak eragin zituen estresak, eta ondorengo ikerketetan ere hala ikusi da (Haller, Fuchs, Halász eta Makara, 1999; Herzog, Czéh, et al., 2009; Jarcho, Massner, Eggert eta Wichelt, 2016; Schmidt et al., 2010). Hala ere, ESKE erabilitako lan guztiek ez dituzte emaitza berak lortu, eta datuak eztabaidagarriak dira (Palanza eta Parmigiani, 2017; Saavedra-Rodríguez eta Feig, 2013). Baliteke hori horrela izatea eredia estandarizatu gabe dagoelako eta erabilitako metodologia eta neurtutako aldagaiak ezberdinak direlako.

1.4.2 DESBERDINTASUN FISIOLGIKOAK

Estresarekiko erantzun fisiologikoak eta jokabide erantzunak sexuaren araberako berezitasunak aurkezten dituzte, eta hortaz, baita depresioaren patogenesiak ere (Beery eta Zucker, 2011). Ikerlanek adierazten dutenez, sexu ezberdintasunak garun funtzioaren maila askotan aurkitzen dira: ioi katetik hasi eta giza jokabidera iritsi arte.

Sexu ezberdintasun horien erantzule nagusi bezala hormona sexualak proposatu izan dira. Izan ere, emakumeen depresio prebalentziak nerabegarotik aurrera egiten du gora, ugaltze funtzioarekin batera, eta 55 urte inguruan gutxitzen da, ugaltze funtzioaren amaierarekin batera (Gómez, Martínez-Mota, Estrada-Camarena eta Fernández-Guasti, 2014; Gutiérrez-Lobos, Scherer, Anderer eta Katschnig, 2002). Gainera, hormona sexualen gorabehera garaian depresioa pairatzeko arriskua handiagoa da, hala nola, pubertaroan; fase premenstrualean; haurdunaldian, erditze ondorengo fasean eta perimenopausian (Ahokas, Kaukoranta, Wahlbeck eta Aito, 2001; McCoy et al., 2008; Solomon eta Herman, 2009; Wise, Felker eta Stahl, 2008). Esteroide gonadalek depresioan inplikaturako mekanismo fisiologikoetan parte hartzen dute, eta nagusiki, bere efektua egitura linbikoetan kokaturako estrogeno hartzaileen bidez gauzatu dezaketela uste da (Handa et al., 2012; Handa eta Weiser, 2014; Kokras eta Dalla, 2014), estres erantzunean inplikaturako mekanismoen erregulazio gaitasunean eraginez. Bizitzako etapa ezberdinetako gorabehera hormonalez gain, hilerokoari lotutako gorabehera hormonalek ere estres erantzuna modulatu dezaketela adierazten dute zenbait ikerketek (Goldstein, Jerram, Abbs, Whitfield-Gabrieli eta Makris, 2010; Nestler et al., 2002; Prange-Kiel, Fester, Zhou, Jarry eta Rune, 2009), baina nahasmendu psikiatrikoengan izan dezaketen eraginaren inguruko emaitzetan desadostasunak daude (Handa eta Weiser, 2014; Kokras eta Dalla, 2014). Androgeno mailei dagokienean ere, depresioan joka dezaketen paperaren

inguruan emaitza kontrajarriak aurkitu dira (Rohr, 2002; Seidman, Spatz, Rizzo eta Roose, 2001). Hala ere, ikerketa gehienetan testosteronak depresioarekiko funtzio babeslea betetzen duela adierazten dute (DiBlasio et al., 2008; Kanayama, Amiaz, Seidman eta Pope, 2007; McHenry, Carrier, Hull eta Kabbaj, 2014; Zarrouf, Artz, Griffith, Sirbu eta Kommor, 2009).

1.4.2.1 Desberdintasun fisiologiko sexualak estres erantzunean

Estres erantzun egokitzaille zein fisiopatologikoan, HPG ardatzak HPA ardatzarekin eta SNA-rekin elkarrekintzan dihardu. Karraskarietan, ezagun da emeek arrek baino kortikosterona maila basal altuagoak izaten dituztela (Weiss, Pryce, Jongen-Rêlo, Nanz-Bahr eta Feldon, 2004; Yoshimura et al., 2003). Estresaren aurrean ere, emeek glukokortikoide kontzentrazio handiagoa askatzen dute (Handa eta Weiser, 2014) eta hipotalamoko nukleo parabentrikularrean aktibitate handiagoarekin erantzuten dute (McCormick, Merrick, Secen eta Helmreich, 2007). Gainera, hartzaile glukokortikoideen gaineko datuek adierazten dutenez, arrek HPA ardatzaren atzeraelikadura potentzial eta modulazio inhibitzaile sendoagoa dute (Goel eta Bale, 2010). Karraskarietan jasotako datu horien harira, gizakietan estrogenoak eta progesteronak, ez ordea testosteronak, HPA ardatzaren erreaktibitatea areagotzen dute, atzeraelikadura mekanismo inhibitzailea oztopatu eta paziente

deprimituetan ezagun den glukokortikoide maila altua ematea erraztuz (Bangasser eta Valentino, 2014; Kudielka eta Kirschbaum, 2005).

SNA-ren ezberdintasun sexualen inguruan gutxiago ikertu bada ere, badirudi enbor entzefalikoan kokatzen den eta estresarekiko berehalako kitzikapen erantzunean NA ekoizten duen *locus coeruleus* gunea ezberdina dela bi sexuetan. Zehazki, emeetan gunearen bolumena handiago da eta arretan baino neurona kopuru handiagoa du (Pinos et al., 2001) eta aktibitate ezberdina izan dezake, bertan kokatutako CRH hartzailen sentikortasunean sexuaren araberako ezberdintasunak direla eta (Curtis, Bethea eta Valentino, 2006).

1.4.2.2 Desberdintasun fisiologiko sexualak monoaminetan

Sistema monoaminergikoari helduz, oro har, garuneko serotonina sintesia eta 5-HT₂ serotonina hartzailaren lotura gaitasuna emakumezkoetan txikiagoak direla ikusi da (Herzog et al., 2009). Deprimitutako pazienteen artean ere, 5-HT_{1A} hartzailaren lotura gaitasuna txikiagoa da emakumezkoetan (Boldrini, Underwood, Mann eta Arango, 2008; Kaufman et al., 2015). Animalia ereduetan, serotonina eta noradrenalinaren erabileran ezberdintasun sexualak aurkitu dira estres akutu zein kronikoaren aurrean (Jacobson-Pick et al., 2013). Zentzu horretan, estradiolak, estrogeno hartzailen bidez, rafearen nukleo dortsalean transmisio serotoninergikoa modulatu eta jokabidea eta

animo egoera erregulatu ditzakeela adierazten dute datuek (Handa, Mani eta Uht, 2012). Gainera, arratoi eme obariektomizatuetan estradiola emateak hainbat garun egituratan NA maila areagotzea eragin dezakeela ikusi da (Alfinito, Chen, Mastroeni, Pawlyk eta Deecher, 2009; Lubbers et al., 2010), eta gizakietan, CRH eta NA maila altuak batera agertzen direnean, hiperarousal sintomadun depresio mota garatzea errazagoa dela proposatu da, emakumezkoetan depresio mota hori ohikoagoa delarik (Gold eta Chrousos, 2002; Koob, 1999). Aktibitate dopaminergikoari dagokionean ere, estresoreen aurrean arratoi ar edo emeek dopamina eta haren metabolito mailen gorabehera ezberdinekin erantzuten dute hipokanpo, hipotalamo, kortex prefrontal eta estriatuan besteak beste (Dalla et al., 2008; Duchesne, Dufresne eta Sullivan, 2009).

1.4.2.3 Desberdintasun fisiologiko sexualak BDNF-en

Estrogenoek BDNFren espresioa ere modulatu dezakete agian sistema immunitarioaren aktibitatearen bitartez. Obariektomiak berak BDNF mailak jaitsi ditzake hipokanpoan eta kortexean, eta BDNF maila bere onera itzul daiteke estradiola administratuz gero (Sohrabji, Miranda eta Toran-Allerand, 1995). Halaber, ikaste eta memoria lantze ariketetan hobekuntza ikusi daiteke obariektomizatutako subjektuetan estrogeno tratamendua emanda (Daniel, Fader, Spencer eta Dohanich, 1997; O'Neal, Means, Poole eta Hamm, 1996). Aitzitik, in-vitro ikerketa batzuek estradiolak eragindako BDNF areagotzeak (Ivanova eta Beyer, 2001),

gutxitzeak (Murphy, Cole eta Segal, 1998) edota efektu eza (Viant, Millam, Delany eta Fry, 2000) adierazten dituzte, eta beste batzuek progesteronari egozten diote BDNFren espresioa neurobabesaren mesedetan erregulatzeko gaitasuna (Aguirre eta Baudry, 2009). Depresio nagusia diagnostikatutako pazienteetan, plasmako BDNF maila eta sintomen larritasunaren arteko korrelazioa aurkitu zuten soilik tratamendu antidepresiborik ez zuen emakumeen taldean, ez ordea gizonetan (Kreinin et al., 2015).

1.4.2.4 Desberdintasun fisiologiko sexualak sistema immunitarioan

Sistema immunitarioari dagokionean, espezie desberdinetako subjektu emeek arrek baino erantzun immune indartsuagoa eta infekzioekiko erresistentzia handiagoa erakusten dute oro har (Klein, 2000; McClelland eta Smith, 2011), ezaugarri horiek kultura ezberdinetan topatu ohi den emakumeen bizi-itzaropen luzeagoarekin zerikusia dutela uste delarik (Nunn, Lindenfors, Pursall eta Rolff, 2009). Era berean, immunitatearen erreaktibotasun handiago hori dela eta, jatorri autoimmunea duten gaixotasunak maizago gertatzen dira emakumeetan, lupus eritematoso sistematikoa, Graves gaixotasuna eta esklerosi anizkoitza esaterako (Loram et al., 2012; McCombe, Greer eta Mackay, 2009). Hala ere, beste zenbait gaixotasun inflamatorioen animalia ereduetan ikusi denez, emeen jokabidea eta immunitatea ez dira arrena

beste erasaten, hala nola, entzefalomieltis autoimmunean (Harpaz et al., 2013), entzefalopatia hipoxiko-iskemikoan (Mirza, Ritzel, Xu, McCullough eta Liu, 2015) eta istripu zerebrobaskular mikroenbolikoan (Nemeth, Reddy, Bekhbat, Bailey eta Neigh, 2014). Horren aurrean proposatu da, estrogeno eta progesteronaren ekintza antiinflamatorioa babesgarria izan daitekeela zenbait gaixotasunen aurrean. (Czlonkowska, Ciesielska, Gromadzka eta Kurkowska-Jastrzebska, 2006). Halabaina, esteroide sexualen ekintza immuno-modulatzailea testuinguruaren eta hormona mailen araberakoa da. Izan ere, estradiol exogenoak immunitate humorala areagotzeko efektua du (D'Elia eta Carlsten, 2008), immunitate zelularra dosiaren arabera areagotu nahiz gutxitu dezaken bitartean (Kovacs, Messingham eta Gregory, 2002).

Garuneko immunitate elementu nagusia den mikroglia ere, ezberdintasun sexualak azaltzen ditu bere funtzioan (Schwarz eta Bilbo, 2012). Depresioan eta estres erantzunean aurkitutako desberdintasun neuroimmuneen artean, deprimitutako gizonetan, emakumetan ez bezala, berezko immunitate erantzunean parte hartzen duten zelula hiltzaile naturalak (*natural killer*, NK) zelulek behera egiten dute, baita gaitasun zitolitikoak ere (Pitychoutis eta Papadopoulou-Daifoti, 2010; Schwarz eta Bilbo, 2012). Sagu emeek immunoglobulina maila handiagoak dituzte (Grossman, 1989), baita T eta B zelulen mitogenesi handiagoa ere (Schneider, Schwacha eta Chaudry, 2007). Gaixotasun jokabidean inplikaturako mekanismoei dagokienean, zelula adiposoak IL-6 gehiago ekoiztearekin lotzen dira, eta emakumezkoen fisiologiak adipositateko

joera handiagoa du gizonenak baino (Luppino et al., 2010). Ikerketa baten arabera, LPS administratu ostean plasmako IL-6 maila gizon zein emakumeetan igo bazen ere, igoera horrek emakumeetan soilik korrelazionatu zuen aldarte depresiboarekin (Eisenberger, Inagaki, Rameson, Mashal eta Irwin, 2009). Norabide berean, beste lan batzuek proteina C-erreaktiboaren, eta IL-1 β eta TNF α kontzentrazioaren eta depresio sintomen larritasunaren arteko erlazioa aurkitu zuten soilik emakumezkoetan (Birur, Amrock, Shelton eta Li, 2017; Kohler-Forsberg et al., 2017).

Horrela bada, estresari lotutako neuroinflamazio prozesuan aurkitutako dimorfismo sexuala emakumeek depresioa pairatzeko duten arrisku handiagoaren erantzuleetako bat izan daiteke (Bekhbat eta Neigh, 2018; Pitychoutis eta Papadopoulou-Daifoti, 2010). Gainera, ezagun da HPA ardatzak, glukokortikoideen bidez, eta SNA-ak, katekolaminen bidez, funtzio immunea erregulatu dezaketela (Bellavance eta Rivest, 2014; Raison et al., 2006), eta ondorioz, HPA ardatzaren eta SNA-ren erantzunean aurki daitezkeen berezitasun sexualek ezberdintasun immunitarioak ere eragin ditzakete. Badirudi beraz estresak sexuen arteko dimorfismo sexual inflamatorioa indartu dezakeela, depresioarekiko zaugarritasunean dauden ezberdintasunetan parte hartuz (Bourke et al., 2013; Rohleder, Schommer, Hellhammer, Engel eta Kirschbaum, 2001).

1.5 BENLAFAXINA

Benlafaxina ((RS)-1-[2-dimetilamino-1-(4-metoxifenil)-etil]ziklohexanola) serotonina eta noradrenalinaren birxurgatzearen inhibitzailea da. Dosi txikitan 5-HT birkaptazioa inhibitzen du, gune sinaptikoko 5-HT eskuragarritasuna handiagotuz. Dosi ertainean aurreko efektuari efektu noradrenergikoa gehitzen zaio, eta dosi altuan eragin dopaminergikoa ere badu (Stahl, 2013; Malikowska et al., 2017). Hartzaiilekiko loturari buruzko ikerketen arabera, benlafaxina ez zaie goian aipatutako neurotransmisoreen hartzaileei atxikitzen (Holliday eta Benfield, 1995). Farmako hau P₄₅₀IID₆ zitokromoak metabolizatzen du gibelean. Benlafaxinaren plasmako erdibizitza 5 ordukoa da, bere metabolito nagusiarena, hots, desmetilbenlafaxinarena, 10-11 ordukoa den bitartean. Egoera geldikorrean, farmakoaren kontzentrazio handiena hiru egunetara lortzen da, eta benlafaxina eta bere metabolitoen kanporatzea giltzurrunen bidez gertatzen da gehien bat (Holliday eta Benfield, 1995; Patat et al., 1998). Benlafaxinak ekintza farmakologiko zehatza du eta efektu antikolinergiko minimoak ditu, tolerantzia eta segurtasun ratioen mesedetan (Burnett eta Dinan, 1998; Il'ina, 2009). Albo ondorioen artean ohikoena goragalea da, baina epe luzean zefalea, izerditzea eta idorreria ere eragin ditzake. Sistema monoaminergikoan duen ekintza konbinatua dela eta SBIS-ek baino efektu azkarragoa eta sintomen erremisio arrakasta handiagoa duela adierazi da (Deakin eta Dursun, 2002; Nemeroff et al., 2008).

Gainera, dosi ertaineko ekintza dual horrek, serotoninan eta noradrenalinan eragina izanik, espektro zabaleko antidepresibo eta

antsiolitiko bihurtzen du (Panteleeva, Oleichik, Abramova eta Yumatova, 2016; Smith, Dempster, Glanville, Freemantle eta Anderson, 2002), eta bereziki eraginkorra izan daiteke emakumezkoetan, depresio eta antsietate sintomak batera sarriago agertzen baitira populazio honetan. Hain zuzen ere, plazebo faktorea kontrolatutako saiakuntza kliniko batean, benlafaxinak emakume helduetan erakutsi zuen sintomen erremisio ratio handiena (Thase, Entsuah, Cantillon eta Kornstein, 2005), eta metaanlisi baten arabera, depresioa duten pazienteen artean emakumeek benlafaxinarekin sintomak arintzeko aukera handiagoa dute (Thase et al., 2017).

Ikerketa preklinikoetan, benlafaxina estres eredu ezberdinekin aztertu da. Porrot sozialaren bidez estresatutako sagu arretan, 20 mg/kg-ko benlafaxina administrazio kronikoak depresio eta antsietate-motako jokabideak lehengoratzeko gaitasuna erakutsi zuen (Venzala, García-García, Elizalde, Delagrange eta Tordera, 2012), eta 16 mg/kg-ko tratamendu kronikoak porrot sozialak eragindako etsipen-motako jokabidea eta jarduera esploratzaile gutxitua arindu zituen (Bai, et al., 2017). Beste ikerketa batean ere, 5, 10 eta 20 mg/kg-ko dosien artean 20 mg/kg-koa izan zen eraginkorrena isatsetik esekitzeko proban (*tail suspension test*, TST) eta behartutako igeriketa proban (*forced swimming test*, FST) depresio-motako jokabidetzat hartzen den gelditasun denbora murrizteko garaian, eta horrekin batera, estresak induzitutako kalte oxidatibo zelularrarekiko efektu babesgarria erakutsi zuen (Abdel-Wahab eta Salama, 2011).

Astebetetz FST bidez estresatutako sagu arretan, 5 eta 10 mg/kg-ko tratamenduak efektu antsiolitikoa erakutsi zuen (Kumar, Garg, Gaur eta Kumar, 2010). Auresanezinezko estres kroniko arinak (*chronic unpredictable mild stress*, CUMS) eragindako sakarosa kontsumo murrizta eta jarduera lokomotorearen asaldura ere lehengoratu zituen hamar egunez emandako 10 mg/kg-ko benlafaxina tratamenduak (Wang et al., 2016). Horretaz gain, depresio egoeran gertatzen den hantura induzitutako animalia ereduetan, benlafaxina dosi ezberdinek efektu antiinflamatorioa azaldu dute (Ji et al., 2014; Gill, Jamwal, Kumar eta Deshmukh, 2017). Subjektu emeeetan oso ikerketa gutxi badaude ere, arratoi emeeetan benlafaxinak depresio-motako jokabidea arindu eta kortikosterona mailak lehengoratu ditzakeela ikusi da (Xing et al., 2013).

II. KAPITULUA

HELBURUAK ETA HIPOTESIA

Ikerketa kliniko zein preklinikoetan ikusi denez, estres sozial kronikoa estres iturri garrantzitsua da animalietan, eta funtsezko eragile izan daiteke nahasmendu depresibo eta afektiboen garapenean (Blazer eta Hybels, 2005; Kessler, 1997; Slavich eta Irwin, 2014). Izaera soziala izateaz gain, kronikoki irauten duten eta aurretik jakin ezinak diren estresoreak dira inpaktu handiena dutenak, eta norbanakoaren egokitze gaitasuna erasaten dute (Blanchard, McKittrick eta Blanchard, 2001; McEwen, 2004). Baina esperientzia estresagarriek depresioaren garapenean inplikaturako bide fisiologikoetan duten eraginaren inguruko ezagutza oso mugatua da oraindik, eta ondorioz, baita diana farmakologiko espezifikoko hautatzeko aukera ere. Hala ere, azken urteotan garaturako animalia-ereduei esker, ekarpen garrantzitsuak egin dira depresioaren fisiopatologiaren esparruan. Estres sozial kronikoak animalietan eragindako aldaketa neurokimiko eta jokabide aldaketak, giza-depresioan ematen diren aldaketekin bat datozela ikusi da (Barrientos et al., 2003; Dantzer et al., 2008). Hain zuzen ere, giza-depresioan gertatu bezala, estres kronikoak HPA ardatza, neurotrofinak, zitokina proinflamatorioak, sistema monoaminergikoa eta hipokanpoaren bolumena erasaten dituzte animalietan, animalia eredu horien konstruktibaliokotasunaren mesedetan (Abelaira, Reus eta Quevedo, 2013).

Baina, paradoxa badirudi ere, emakumeek estresari lotutako nahasmenduak pairatzeko aukera handiagoa izan arren, gaixotasun

mentalak ikertzeko animalia eredu gehienak arrekin osatu dira, sexu aldagaia kontuan izan gabe (Beery eta Zucker, 2011; Kreiner et al., 2013; Zucker eta Beery, 2010). Horrela bada, ikerketa preklinikoetan, depresio eredu erabilienetarikoa bat porrot soziala eta mendean hartzearen estresa da (Becker et al., 2008; Bjorkqvist, 2001; Rygula et al., 2005). Hala ere, porrotarekin erlazionatutako estres eredu hau ez da egokia emeetan, hauek ez baitute lurralde lehiakortasun oldarkor bat erakusten, ugalketa sasoi zehatzetan ez bada behintzat (Berry eta Bronson 1992; Palanza eta Parmigiani, 2017), eta badirudi emeen antolamendu soziala arren garailemendeko harremana baino afiliatiboagoa eta konplexuagoa dela (Schuhr, 1987). Izan ere, kaiola-kideak izateak sostengu soziala eman diezaike emeei, eta arrei ez bezala, espezie-kideekin lurraldea partekatzea onuragarri zaie ikuspuntu etologikotik (Taylor et al., 2000). Hori dela eta, karraskari emeek porrot sozialaren aurrean estres erantzun esanguratsurik aurkezten ez badute ere, aldaketa neurobiologiko sendoagoak azal ditzakete ezegonkortasun soziala eta sare soziala etetea dakarten estres ereduarekin (Haller et al., 1999; Martin eta Brown, 2010). Zentzu horretan, estresari lotutako nahasmenduen inguruko ikerketa preklinikoaren erronketako bat, emeen izaera sozialari egokitzen zaion estres eredu bat finkatzea da, oraindik ez baita horrelako protokolorik estandarizatu.

Hori guztiaz gain, sexuaren araberako ezberdintasun fisiologikoak aurkitu dira estres erantzuna orkestratzeaz arduratzen duten HPA ardatzean eta NSA-an (Dalla et al., 2008; Dalla eta Shors, 2009; Simpson

eta Kelly, 2012). Aipatzekoa da bi sistema horiek HPG ardatzarekin elkarrekintzan dihardutela, eta harreman hori estres erantzun egokitzailean nahiz fisiopatologikoan ikusitako ezberdintasun sexualen erantzuleako bat dela adierazten dute datuek (Bourke, Harrell, eta Neigh).

Bestalde, depresioaren hipotesi inflamatorioaren arabera, depresioan behatutako asaldura zentraletako asko, hala nola, HPA ardatzaren hiperaktibazio, endekapen neuronalak, neurogenesi gutxitua, estres oxidatiboa eta serotonina seinalizazioaren gutxitzea (Gillespie eta Marberg, 2016), hein batean behintzat, faktore estresagarriak kitzikatutako zitokina inflamatorioen eraginpean egon daitezke (Maes et al., 2009; Dantzer et al., 2008). Esparru honetako ikerketa gehienek zitokina proinflamatorioak hartu dituzte ardatz, baina zitokina proinflamatorioen eta antiinflamatorioen arteko desoreka aldaketa iraunkorrak eragin ditzake garun funtzioan, eta zitokina antiinflamatorioek zeregin babeslea izan dezakete (Capuron eta Miller, 2011).

Hori guztia dela eta, ezegonkortasun sozial kronikoaren estres paradigma izan daiteke emeen izaera sozialari gehien egokitzen zaion estres-eredua. Baina, eredu honen orain arteko erabilerak zenbait muga ditu. Ezberdintasun metodologikoak daude erabili duten ikerlanen artean; karraskari espezie ezberdinak erabiltzeaz gain, estresaren iraupena eta isolatze eta taldekatze faseen protokoloak lan batetik bestera aldatzen dira. Hala ere, ikerketak bat datoz eredu honek estresa eragiten duela

adierazterakoan, kortikosterona maila altuak aurkitzen baitituzte, HPA ardatzaren hiperaktibitatearen seinale (Baranyi, Bakos eta Haller, 2005; Haller, Baranyi, Bakos eta Halász, 2004; Herzog, Czech, et al., 2009; Nowacka et al., 2015; Nowacka, Paul-Samojedny, Bielecka eta Obuchowicz, 2014). Depresio-motako fenotipoa eragin ote dezakeen aztertzerakoan, datu gutxiago dago ordea. Ikerketa gutxitan erabili baitituzte depresio-motako jokabideak aztertzeko jokabide probak (Herzog, Czéh, et al., 2009; Nowacka, Paul-Samojedny, Bielecka eta Obuchowicz, 2014), eta lan talde horiek beraiek depresioan parte hartu dezaketen faktore trofikoaren inguruan ikertu badute ere (Herzog, Czéh, et al., 2009; Nowacka et al., 2014; Nowacka et al., 2015), estres-eredu honek subjektu emeen aktibitate monoaminergikoan eta zitokinetan eragin ditzakeen aldaketen inguruan ez dago ikerketarik.

Depresioarentzako tratamendu eraginkorrak aurkitzea da ikerketa lerro honetako erronka handienetako bat, eta kontuan izan behar da antidepresiboek eraginkortasuna ezberdina dutela ar eta emeetan (Dalla, Pitychoutis, Kokras eta Papadopoulou-Daifoti, 2010). Horretaz gain, farmako antidepresiboek sintomatologia zein ekintza mekanismoren bidez arintzen duten ikertzeak ere depresioaren fisiopatologia argitzen lagun dezake. Testuinguru honetan, badirudi ekintza mekanismo duala duten antidepresiboek, serotonina eta noradrenalinaren birxurgatzea inhibitzen dutenak alegia, bereziki eraginkorrak izan daitezkeela emakumeetan, depresio sintomez gain antsietate sintomak ere arintzen baitituzte (Stahl, 2013).

HELBURU OROKORRA

Hori guztia kontuan izanda, ikerlan honetako helburu orokorra ezegonkortasun sozial kronikoaren estresa sagu emeeetan depresio-motako egoera eragiteko baliagarria den probatzea da. Honek emakumeentzako interbentzio terapeutiko zehatzagoak aukeratzea, diana farmakologiko berriak zehaztea eta prebentzio estrategia egokiagoak garatzea ahalbidetuko ditu.

HELBURU ZEHATZAK

Xede horrekin, honako helburu zehatzak finkatu dira:

- 1.- Lau asteko ezegonkortasun sozial kronikoaren estresak depresio-motako jokabide probetan (sakarosa lehenespen proba edo SPT eta FST) duen eragina aztertzea.
- 2.- Lau asteko ezegonkortasun sozial kronikoaren estresaren eragina aztertzea HPA eta HPG ardatzen aktibitatean:
 - HPA ardatzaren aktibitatea: odoleko kortikosterona kontzentrazioa neurtuko da estresa hasi aurretik eta estresaren ondoren. Hipotalamoko GR eta MR hartzaileen espresioa ere neurtuko da.
 - HPG ardatzaren aktibitatea: odoleko estradiol kontzentrazioa neurtuko da estresa amaitutakoan. Hipotalamo eta hipokanpoko

estrogeno hartzaileen (ER- α eta ER- β) espresioa ere aztertuko da. Saguen hasierako eta amaierako ziklo estraleko faseen iraupena konparatuko da.

3.- Lau asteko ezegonkortasun sozial kronikoaren estresaren eragina aztertzea aktibitate immunitario eta monoaminergiko zentralean.

- Aktibitate immunitarioa: hipokanpoko zitokina proinflamatorioen (IL-6, IL-1 β eta TNF α) eta IL-10 zitokina antiinflamatorioaren mRNA espresioa neurtuko da estresaren ondoren.IDO entzimaren espresioa ere zehaztuko da garun egitura berean. Triptofanoaren bide metabolikoa ere aztertuko da (TRYP, KYN eta 3-HK).
- Aktibitate monoaminergikoan: hipokanpoko 5-HT, NA eta DA mailak eta euren metabolitoak mailak (5-HIAA, MHPG eta DOPAC) neurtuko dira.

4.- Zazpi asteko ezegonkortasun sozial kronikoak depresio eta antsietate-motako jokabide probetan (SPT, FST eta eremu irekiko proba edo OFT), HPA ardatzean (kortikosterona eta hipotalamo eta hipokanpoko GR eta MR hartzaileak) eta HPG ardatzean (hipotalamo eta hipokanpoko ER α eta ER β) duen eragina aztertzea.

5.- Zazpi asteko ezegonkortasun sozial kronikoaren estresaren eragina aztertzea aktibitate immunitario eta monoaminergiko zentrolean:

- Aktibitate immunitarioa: hipokanpo eta estriatuko zitokina proinflamatorioen (IL-6, IL-1 β eta TNF α) eta IL-10 zitokina antiinflamatorioaren mRNA espresioa neurtuko da estresaren ondoren. Triptofanoaren bide metabolikoa ere aztertuko da (TRYP, KYN eta 3-HK).
- Aktibitate monoaminergikoan: hipokanpoko, estriatu eta kortex prefrontaleko 5-HT, NA eta DA mailak eta euren metabolitoak mailak (5-HIAA, MHPG eta DOPAC) neurtuko dira.

6. Benlafaxina tratamendu kronikoak estresak eragindako jokabide aldaketak eta aldaketa fisiologikoak lehengoratzten dituen aztertzea.

HIPOTESIA

Ezegonkortasun sozial kronikoaren estres-ereduak sagu emeengan aurrez depresioaren patogenesiarekin erlazionatu diren aldaketak eragingo dituela espero da, jokabidean, aktibitate neuroendokrinoan, sistema monoaminergiko zentrolean eta zitokinen espresio zentrolean. Gainera, benlafaxina tratamendu farmakologiko kronikoak ezegonkortasun sozial kronikoaren estresak eragindako depresio-motako jokabide eta aldaketa fisiologikoak lehengoratu dituela espero dugu.

III. KAPITULUA

LEHEN ESPERIMENTUA

3.1 METODOLOGIA

3.1.1 ANIMALIAK ETA ABELTEGIKO BALDINTZAK

Ikerlan honetako lehen esperimentua Euskal Herriko Unibertsitateko Psikologia Fakultateko Psikobiologiako laborategian burutu zen. Horretarako CD-1 zepa ez odolokideko sagu emeak (Janvier, Saint-Berthevin, Frantzia) erabili ziren. Zazpi asteko adinarekin iritsi ziren laborategira. Abeltzeko temperatura $22 \pm 1^\circ\text{C}$ -an mantendu zen eta hezetasun erlatiboa %55era. Saguak animalia gautarrak direnez, alderantzizko argi ziklo artifiziala ezarri zitzaion (ilunpeko 12 ordu, 08:00etatik 20:00etara, eta 12 argi ordu, 20:00etatik 08:00etara), haien fase aktiboak ikerlariaren lanorduekin bat egin zezan. Ura eta jana ad libitum izan zuten animaliek.

Laborategira iritsitakoan, saguak 24,5 x 24,5 x 15 cm-ko plastikozko kaiola gardenetan (Panlab S.L., Barcelona, Espainia) hirunaka taldekatu ziren astebetez, laborategiko baldintzetara egokitu zitezten. Sagu bakoitzari bere identifikazio zenbakia esleitu eta buztan zuztarrean errotulagailu iraunkor batez margotu zitzaion esperimentua hasterako. Hori eta osterantzeko prozedura guztiak saguentzat ikusezina den argi gorriaren pean egin ziren aldameneko gela batean. Diseinu esperimentalak araututako eskuztatzeez gain, kaiolak garbitu eta etzalekua aldatzeko beharrezko manipulazioak ere burutu ziren.

Animalien gaineko prozedura guztiak helburu zientifikoekin erabilitako animaliak babesteko Europako Zuzentarauarekin bat gauzatu

ziren (2010/63/UE), eta Euskal Herriko Unibertsitateko Animaliekin egiten den Esperimentaziorako Etika Batzordeak (AEEB) eta Gipuzkoako Diputazioak onetsi eta kontrolatu zituzten.

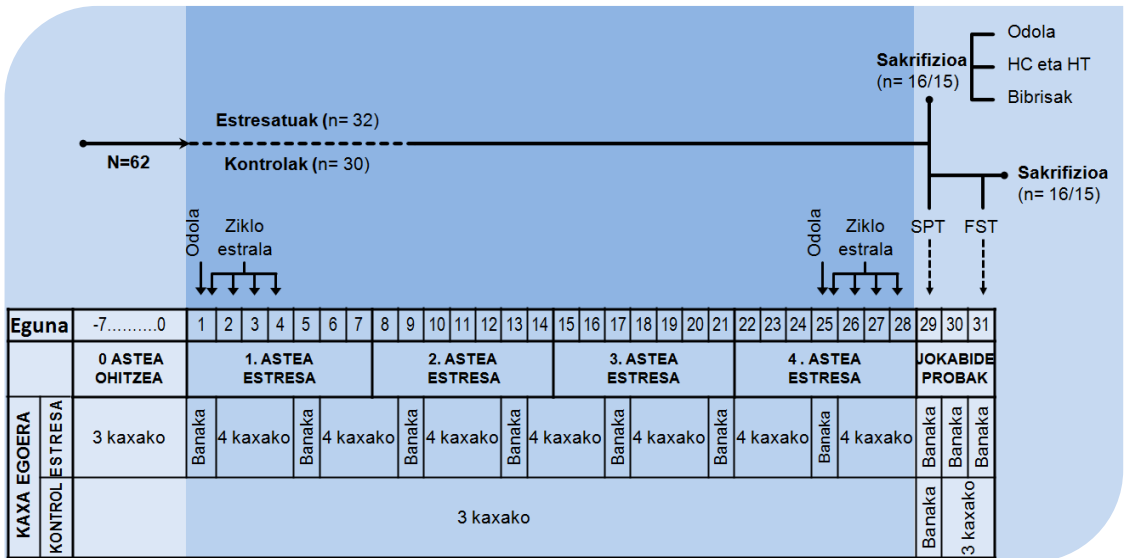
3.1.2. DISEINU ESPERIMENTALA

Hirurogeita bi sagu eme erabili ziren lehenengo esperimentu honetan. Egokitze aldiaren ostean, kontrol taldea (n=30) eta estres taldea (n=32) bereizi ziren. Estres taldekoei ezegonkortasun sozial kronikoaren estresa (ikus 3.1.3 atala) aplikatu zitzaien 28 egunez. Bitartean, kontrol taldeko subjektuak egokitze aldiko baldintzetan jarraitu zuten, kaiola-kide berberekin. Hogeita zortzi eguneko estresaldian zehar, hainbat lagin biologiko jaso zitzaizkien subjektu guztiei (N=62). Odol laginak barailpeko ziztada bidez jaso zitzaizkien 1. eta 25. egunetan plasmako kortikosterona mailak neurtzeko. Gorputz pisua estresaldiaren hasiera eta amaieran neurtu zen. Azkenik, lagin baginalak jaso ziren ziklo estralaren erregulartasuna behatzeko (1-4 eta 25-28 egunetan).

Hogeita bederatzigarren egunean, kontrol taldeko animalien erdia (n=15) eta estres taldeko animalien erdia (n=16) dislokazio zerbikal bidez sakrifikatu ziren lagin biologikoak jasotzeko. Sakrifikatu eta berehala, odol laginak jaso zitzaizkien bihotz-ziztada bidez, plasmako estradiol kontzentrazioa zehazteko, eta garuna erauzi zitzaien hipokanpoa eta

hipotalamoa bereizteko. Jasotako lagin biologiko guztiak -80°C -ra biltegitatu ziren analisiak egin artean. Sakrifizio ostean, saguen muturreko bibrisak neurtu ziren *barbering* zeinuak aztertzeke (ikus 3.1.4.3 atala).

Hogeita bederatzigarren egunean bertan, gainerako estres taldeko eta kontrol taldeko saguak ($n=16$ eta $n=15$ hurrenez hurren) banaka ezarri ziren 24 orduz SPT proba osatzeko eta jan kontsumoa aztertzeke. Proba honen ostean, 30. egunean, kontrol saguak ohiko kaiola-kideekin elkartu ziren eta estresatuek isolatuta jarraitu zuten. Hogeita hamaikagarren egunean, sagu guztiek FST proba egin zuten eta berau amaitzean dislokazio zerbikal bidez sakrifikatu ziren (ikus 4. irudia). *Barbering*-a ez zen aintzat hartu jokabide probak osatu zituzten saguen txandan, isolaturik egondako egunetan *hetero-barbering* jokabidea jazotzea ezinezkoa baitzen (ikus 5. irudia).



4. irudia. Lehen esperimentuko diseinua.

3.1.3. ESTRES PROZEDURA

Lan honetan erabilitako ezegonkortasun sozial kronikoaren estres prozedura Haller *et al.*-ek (1999) arratoi emeein eta Schmidt *et al.*-ek (2010) sagu emeein deskribatutako protokoloetan oinarritu zen. Saguek egun bat isolatuta pasatu ostean, hiru eguneko taldekatze fasea zetorren (lau sagu kaiolako), eta isolatze eta taldekatze fase hauek behin eta berriz errepikatu ziren 28 egunez. Saguak launaka jartzen ziren bakoitzean, ezezagunak zitzaizkien kaiola-kideekin elkartzen ziren. Era honetan, sare sozial egonkor bat osatzea eragozten zitzairen. Taldekatze faseetan kaiola-

kide bera birritan ez egokitzeko, konbinazio diseinu bat garatu zen tesi hau osatzen duten esperimentuetarako honetarako (ikus I. eranskina).

3.1.4 JOKABIDEAREN EBALUAZIOA

3.1.4.1 SPT eta janari kontsumoa

Anhedonia, sari sistema erasanarekin erlazionatzen den plazera sentitzeko gaitasun ezari deritzo eta depresioaren sintoma nagusizat hartzen da. Animalia ereduetan, SPT da anhedonia neurtzeko gehien erabiltzen den proba (Slattery eta Cryan, 2017). Sakaroadun ura eta ur hutsa jartzen zaizkio aukeran subjektuari, eta edandako bolumen totaletik sakarosa proportzioa kalkulatu da. Sakarosarekiko lehentasun txikiagotua anhedonia zeinutzat hartzen da. Jokabide probetara esleitutako saguak banaka jarri ziren karioletan eta 24 orduz edana asetzeko bi biberoi izan zituzten aukeran; batako %0.8ko sakarosa disoluzioa zeraman eta besteak ur hutsa. Saguak biberorien kokalekuarekiko izan zezaketen lehentasuna kontrolatzeko asmoz, subjektuen erdiari sakaroadun biberoiak ezkerrean eta ura eskuinean ipini zitzaizkien, eta beste erdiari alderantziz. Aldi berean, saguei launa pentsu ale jarri zitzaizkien jantokian. Probaren aurretik ez zuten inolako jan edo ur murrizketarik izan. Sakarosa disoluzioaren, uraren eta janariaren kontsumoa kalkulatzeko, biberorien eta pentsuaren pisua proba

hasi aurretik eta proba amaitu ondoren erregistratu ziren, eta gorputz pisuarekiko proportzioan adierazi gero. Sakarosa lehenespena kalkulatzeko, sakarosa kontsumoa edandako bolumen totalarekin zatitu zen eta haren ehunekoa adierazi $\left[\frac{\text{sakarosa g}}{\text{lur g} + \text{sakarosa g}} \times 100 \right]$.

3.1.4.2 Behartutako igeriketa proba (Forced Swimming Test, FST)

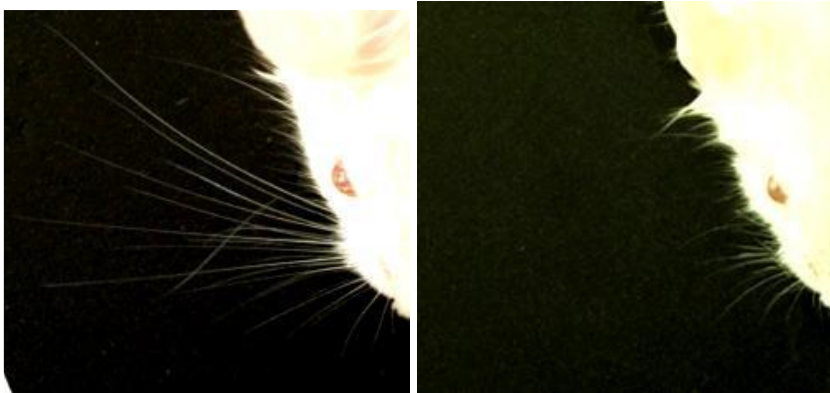
FST edo Porsolten behartutako igeriketak (Porsolt, Bertin eta Jalfre, 1977) subjektuek ihes egitea ezinezkoa zaien urontzi batean duten jarduera behatzean datza. Depresio-motako etsipen jokabidea behatzeko FST probak duen erabilera asko hazi da azken urteotan, geldi geratu arteko latentzia eta gelditasunean iragandako denbora irizpide gisa neurtzen direlarik (De Kloet eta Molendijk, 2016). Antidepressiboen baheketa-test modura ere erabilera zabala du, farmako hauek identifikatzeko baliozkotasun aurrealea duela ikusi baita (O'Neil eta Moore, 2003; Palanza, 2001).

Proba honetan, animaliak 13,5 cm³ ur 25º C-tan duen ontzi zilindriko banatan (18.5 cm-ko garaiera eta 12.5 cm-ko diametroa) sartu ziren 6 minutuz. Bideokamara finko batzuk (JVC, GZ-MG77E) erabiliz saguaren aktibitatea grabatu eta, ostera, ondoko jokabideak aztertu ziren bideoetan: (a) Gelditasun jokabidea deritzo saguak hankei eragiteari utzi eta ur azalean flotatzen duenean. Burua uretatik kanpo mantentzeko

egindako hanken mugimendu txikiak ere gelditasun jokabidearen baitan sartzen dira. (b) Eskalada jokabidetzat hartzen da saguak ontzian gora igo nahian hormari kemenez haztaka diharduenean. Azkenik, (c) igeriketa jokabidea irizten da aurreko hankei eraginda ur azalean norabide zuzenean edo biraka mugitzen denean. Jokabide bakoitzean emandako denbora (s), latentzia (s) eta maiztasuna Observer 4.0 programaren bidez (Noldus, ITC, Wageningen, Netherlands) erregistratu ziren.

3.1.4.3 *Whisking* jokabidea

Hasera batean jokabide hau aztertzeko xedea finkatu ez bazen ere, esperimentuak aurrera egin ahala zenbait saguk kaiola-kideei muturreko bibrisak ebakitzen zizkietela nabarmena bihurtu zen. *Barbering* jokabidea sarri deskribatu ohi da laborategiko saguetan, eta kasu honetan, *barbering*-a muturreko bibrisetara mugatzen zela ikusirik, gure saguek jokabide honen *whisking* aldaera soilik egiten zutela zehaztu zen, gorputzeko gainerako larruazala osorik baitzuten. *Whisking*-a hetero-*barbering* mota bat da, non barberrak kaiola-kidea heldu eta ebakortzekin bestearen bibrisak mozten dituen (Kalueff, Minasyan, Keisala, Shah eta Tuohimaa, 2006; Sarna, 2000). Biboteen luzera behatu eta bi mailatako eskalan sailkatu zen: (1) bibote osoak— erasan gabeko biboteentzat, eta (2) bibote motzak—bibote laburrak edo soil guneak aurkeztu zituztenentzat (ikus 5. Irudia).

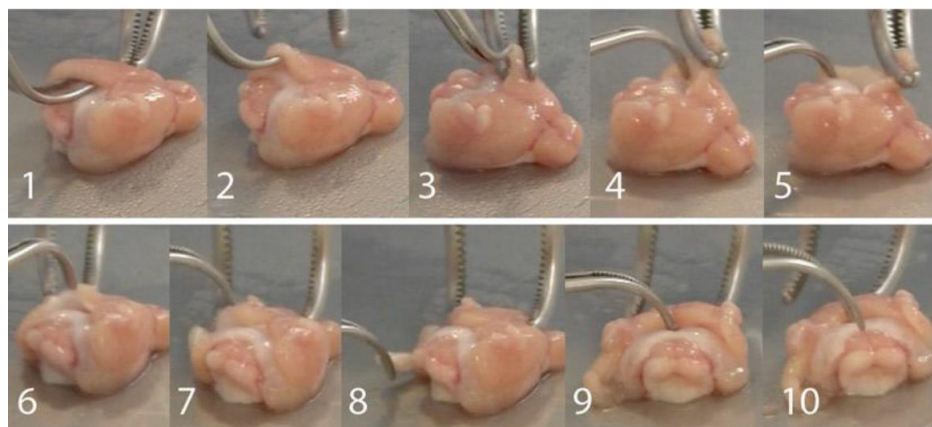


5. Irudia. Whisking zeinuak. Ezkerrean, bibrisak osorik dituen sagua, eskuinean, whisking-aren ondorioz bibrisa moztuak dituen sagua.

3.1.5 ZEHAZTAPEN FISIOLOGIKOAK

3.1.5.1 Garun egiturak erauztea

Egiturak giro tenperaturan hondatzea ekiditeko, erauzketak izotz ezkatzen gainean kokatutako aluminiozko plataforma batean burutu ziren, baldintza esteriletan eta saguen garuneko atlasari jarraiki (Paxinos eta Franklin, 2004) (ikus 6. Irudia). Garunetik, hipotalamoa eta hipokanpoa bereizi eta -80°C -ra gorde ziren.



6. irudia. Garun egiturak erazteko prozeduraren adibidea. Irudian, hipokanpoa bakantzen da zehazki (Spijker, 2011).

3.1.5.2 Odol lagina jaso eta plasma isolatzea

Odol lagina jasotzeko bi teknika ezberdin erabili ziren. Batetik, barailezurreko ziztadak, saguei odol lagin txikiak (100-250 μ l) *in vivo* eraztea ahalbidetu zuen. Teknika hau Golde eta kideek (2005) beste teknika konplikatuagoen ordeko gisa proposatu zuten, eta ziztada azkarra eta txikia denez, ez du anestesia beharrik. Barailezurreko zain submandibularra lantzeta batekin ziztatuta (5mm-ko Goldenrod lantzetak, Medipoint International Inc., EE.UU.) lortu ziren odol laginak goizeko 9:00 eta 10:00ak artean. Odol lagina jasotzeko erabilitako beste teknikak bihotz-ziztadan zetzan, eta hau saguei dislokazio zerbikala egin eta berehala gauzatu zen esperimentu amaieran. Sakrifikatutako subjektua buruz gora kokatu eta ziztada gunea alkoholarekin desinfektatu zen. Jarraian, orratza ezkerraldeko bigarren edo hirugarren saihets-arte

sartzen zen, ezker bentrikularen parean alegia. Xiringarekin bolumen handia (400-800 μ l) xurgatzea ahalbidetzen du azken teknika horrek, betiere sakrifizio garaian soilik erabili daitekeelarik.

Odola ateratakoan heparinadun edukiontzietan gorde zen eta ordubete giro tenperaturan igaro ostean, 1800 x g-ra zentrifugatu zen 15 minutuz 4°C-tan (Jouan, CR412). Bakandutako plasma -80°C-ra gorde zen aztertua izan arte.

3.1.5.3 Plasmako kortikosterona kontzentrazioa zehaztea

Plasmako kortikosterona kontzentrazioa saiakuntza immunoentzimatiko (EIA) bidez neurtu zen, horretarako merkatuan eskuragarri den kit-a erabiliz (Enzo Life Sciences, Madril, Espainia). Kit honek kortikosteronarentzako antigorputz poliklonal zehatzarekin aurrez tratatutako 96 putzutzoko plaka bat ekartzen du. Prozedura fabrikatzailearen argibideak jarraituz eta kitak ekartzen zituen osagaiak soilik erabiliz burutu zen. Azken horiek, erabili baino 30 minutu lehenago atera ziren hozkailutik giro tenperaturan egonkortzeko. Probaren sentikortasuna 5 pg/ml-koa da, eta proba barneko eta proba arteko aldakortasun koefizienteak %7 eta %8-koak, hurrenez hurren.

Kurba estandarra eta laginak prestatzea

Kurba estandarra sortzeko, 200.000 pg/ml-ko kortikosterona kontzentrazioan datorren bialeetik abiatuta bost kontzentrazio patroia puntu prestatu ziren hurrenkera honetan: 20.000 pg/ml, 4.000 pg/ml, 800 pg/ml, 160 pg/ml eta 32 pg/ml. Laginak 1:300 kontzentrazioa diluitu ziren, horretarako plasma μl bat eta 299 μl buffer diluitzaile (proteina eta azida sodikadun tris gatz-tanpoia) nahastuz. Azkenik, kurba estandarreko kontzentrazio puntu bakoitzeko eta lagin bakoitzeko 100 μl gehitu ziren bina putzutxotan, bikoizketarekin neurketen kalitatea ziurtatzeko. Era berean, elkartze ez espezifikoa zehazteko, 150 μl buffer diluitzaile hutsez osatutako kontrol bikoiztu bat ere erein zen.

Kortikosterona antigorputza eta konjugatua inkubatzea

Laginak, patroia eta kontrola erein ostean, 50 μl konjugatu (kortikosteronarekin konjugatutako fosfatasa alkalinoa) gehitu zitzaizkion putzutxo guztiei. Azkenik, 50 μl kortikosterona antigorputz poliklonal gehitu zitzaion kontrola ez beste putzutxo guztiei. Plaka zigiluz babestu eta 500 rpm-ra inkubatzeko utzi zen giro tenperaturan bi orduz plaka-irabiagailuan (Minishaker, IKA). Inkubazioaldi honetan gertatzen da antigorputz-antigeno-antigorputz "sandwich" delakoa.

Substratua gehitzea

Inkubazio-aldiaren ostean, putzutxo oro 300 μl garbigarri-dun tanpoi tris salinorekin hiru bider garbitu eta 200 μl substratu p-Npp (fosfato p-

nitrofenol) gehitu ziren putzutxo guztietan. Ondoren, ordu betez inkubatzen utzi zen giro tenperaturan.

Entzima erreakzioa geratu eta errebelatzea

Inkubazio aldia amaituta, 50 µl fosfato trisodio gehitu ziren putzutxo guztietan entzima erreakzioa geldiarazteko. Jarraian, putzutxo bakoitzaren dentsitate optikoa (DO) lortu zen Synergy HT mikro-plaka irakurgailua (BioTek Instruments, Inc., Winooski, EE.UU) 405 nm-ko uhin luzerara finkatuta.

Emaitzak balioestea

Lehenik eta behin, bikoiztutako lagin eta patroi puntuen DO kalkulatu zen, eta haiei kontrolaren batazbestekoa kendu zitzaien. Patroi puntuen DO-rekin kurba estandarra eraiki zen, eta azken hau erreferentziatzat hartuta, laginen kortikosterona kontzentrazioa kalkulatu zen kurba logistikoaren analisisia GraphPad Prism 3.0 (San Diego, California, EE.UU) programarekin eginda. Azkenik, lortutako balioak laginekin erabilitako 1:300 kontzentrazioa egokitu ziren. Amaitzeko, laginen kortikosterona kontzentrazioa ng/ml-tan adierazi zen.

3.1.5.4 Plasmako estradiol kontzentrazioa zehaztea

Plasmako estradiol kontzentrazioa entzimei lotutako immunoabsortzioko saiakuntza (ELISA) bidez neurtu zen, horretarako merkatuan eskuragarri den kit-a erabiliz (Calbiotech, Spring Valley, CA,

USA). Kit honek aurrez tratatutako 96 putzutxoko plaka bat ekartzen du, estradiolarentzako antigorputz poliklonal zehatzarekin. Prozedura fabrikatzailearen argibideak jarraituz eta kitak ekartzen zituen osagaiak soilik erabiliz burutu zen. Azken horiek, erabili baino 30 minutu lehenago atera ziren hozkailutik giro tenperaturan egonkortzeko. Probaren sentikortasuna 3 pg/ml-koa da, eta proba barneko eta proba arteko aldakortasun koefizienteak %3.1 eta %9.9, hurrenez hurren.

Kurba estandarra eta laginak prestatzea

Kurba estandarra sortzeko, hurrenkera honetako sei kontzentrazio patroia puntu erabili ziren: 300 pg/ml, 100 pg/ml, 30 pg/ml, 3 pg/ml, 0 pg/ml. Kurba estandarreko kontzentrazio puntu bakoitzeko eta lagin bakoitzeko 25 µl erein ziren bina putzutxotan, bikoizketa bidez neurketen kalitatea ziurtatzeko. Era berean, 25 µl buffer diluitzaile (tanpoi tris salinoa azida sodika eta proteinekin) erein ziren bi putzutxotan kontrol moduan.

Estradiol antigorputza eta konjugatua inkubatzea

Laginak, patroia eta kontrola erein ostean 100 µl estradiol entzima konjugatu gehitu ziren putzutxo guztietan. Plaka zigiluz babestu eta 15 segundoz plaka-irabiagailuan 500 rpm-ra (Minishaker, IKA) jarri zen. Ondoren 2 orduz inkubatzen utzi zen giro tenperaturan. Inkubazio aldi honetan gertatzen da antigorputz-antigeno-antigorputz “sandwich” delakoa.

Substratua gehitzea

Inkubazio-aldiaren ostean, putzutxo oro 300 µl garbigarridun tanpoi tris salinorekin hiru bider garbitu zen. Jarraian, puzutxo bakoitzean, 100 µl TMB (3', 3', 5',5'-tetrametilbenzidina) errektibo gehitu, 10 segundoz nahastu eta giro tenperaturan 30 minutuz inkubatu zen plaka.

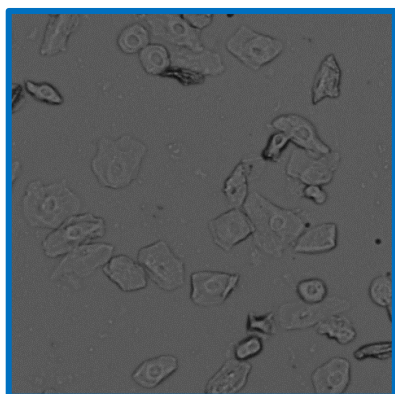
Entzima erreakzioa geratu eta emaitzak balioestea

Ondoren 50µl soluzio geldiarazle (azido sulfurikoa, 0.16M) gehitu eta plaka 30 segundoz 500 rpm-ra (Minishaker, IKA) nahastu zen. Jarraian, putzutxo bakoitzaren DO neurtu zen Synergy HT mikro-plaka irakurgailua (BioTek Instruments, Inc., Winooski, USA) 450 nm-ko uhin luzerara finkatuta. Patroi puntuen DO-rekin kurba estandarra eraiki zen, eta azken hau erreferentziatzat hartuta, laginen estradiol kontzentrazioa kalkulatu zen kurba lineal motako analisisia GraphPad Prism 3.0 (San Diego, California, EE.UU) programarekin ebatzita. Lagin bakoitzari zegokion estradiol kontzentrazioa pg/ml-tan adierazi zen.

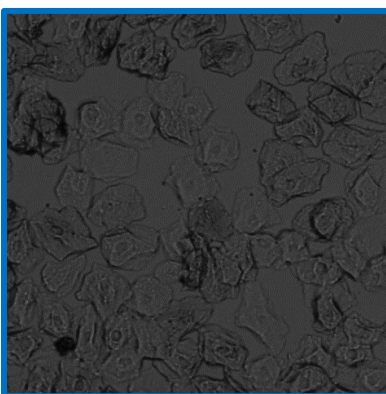
3.1.5.5 Ziklo estrala zehaztea

Ziklo estrala sagu emeek (eta beste zenbait ugaztunek) bi araldiren artean ugal sisteman izaten duten aldaketen segidari deritzo. Bertan lau fase bereizten dira: proestroia, estroia, metestroia eta diestroia. Ziklo estralak zenbait aldagai biologikotan izan dezakeen eragina kontrolatzeko lagin baginalen zitologia erabili ohi da. Metodo honek, lagineko zelula epitelial, adaxkatu eta leukozitoei erreparatuta, karraskarien ziklo

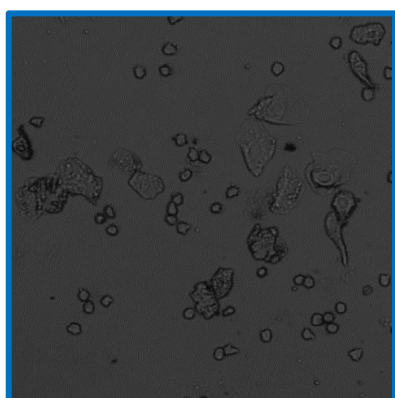
estraleko fasea antzematen laguntzen du (Marcondes, Bianchi eta Tanno, 2002). Horrela bada, lagin baginalak serum fisiologikoz bustitako kotoi-
totzekin jaso ziren. Atera bezain pronto, lagina porta batean finkatu eta
mikroskopia optikoarekin behatu zen (Olympus CX41). Mikroskopiaon
ikusitako irudia Coolpix 4300 (Nikon) kamara digitalarekin erregistratzen
zen (ikus 7. Irudia).



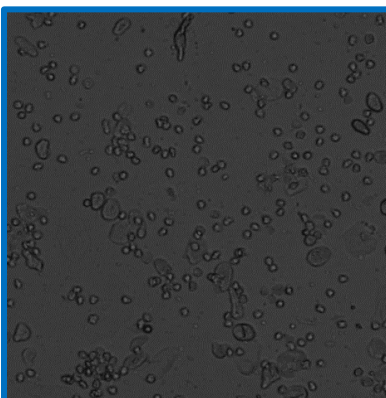
(a) Proestroa.



(b) Estroa.



(c) Metestroa.



(d) Diestroa.

7. irudia. Ziklo estraleko faseak. Lehen esperimentuan jasotako laginen adibide argazkiak.

Ziklo estraleko faseak irizpide estandarra erabiliz bereizi ziren (Mandl, 1951): (a) proestroan nukleodun zelula epitelialak ikusten dira; (b) estroan zelula ezkatatsu adaxkatuez osatutako sorta handiak; (c) metestroan leukozito, zelula adaxkatu eta zelula nukleodunen arteko nahasketa suertatzen da; eta (d) diestroan leukozitoak dira nagusi.

3.1.5.6 Garun egituretako gene espresioa denbora errealeko alderantzizko transkripzio polimerasaren kate-erreakzio (RT-PCR) bidez zehaztea

Jarraian deskribatuko diren prozeduretan laginak ez kutsatzeko beharrezko esterilitate neurriak hartu ziren, eta erabilitako plastikozko material guztia RNAasa eta DNAasa gabekoa zen.

Garun egituretako ehunen RNA isolatzea

Garun-egitura bakoitzaren RNA NucleoSpin RNA Plus kit-a (Macherey Nagel, Alemania) erabiliz isolatu zen, kit honek 30 mg-rainoko laginak prozesatzea ahalbidetzen duelarik. Lehenik eta behin, laginak homogeneousatzeko, 0,5mm eta 1mm-ko diametroa duten zirkonio oxidozko bolatxoak %50eko proportzioan nahastu ziren. Ondoren, laginari bere bolumena adina bolatxo gehitu zitzaizkion, aipatutako kit-ak berekin dakarren guanidina tiozianatozko lisirako bufferraren 350 µl-rekin batera. Jarraian, Bullet Blender astingailuan (BBY24M Bullet Blender Storm, Next, Advance, New York, USA) 8-ko abiaduran hiru minutuz martxa eman eta bolatxoek ehuneko zelulak apurtu eta lagina homogeneousatu zuten. Laginak minutu batez 11000 x g-ra zentrifugatu ziren proteinadun

hauspeakina eta RNAdun gainjalkina bereizteko (Microfuge 22R Centrifuge, Beckman Coulter). Gainjalkina pipetarekin kontu handiz jaso eta prozedurarekin jarraitzeko erabili zen. Hauspeakina bota egin zen.

gDNA kentzeko zutabera isuri zen bakandutako RNAdun gainjalkina eta 30 segundoz 11000 x g-ra zentrifugatu zen. Honela, DNA genomikoa zutabeko iragazkiari itsatsi zitzaion eta RNA hodi biltzailera araztuta jausi. Azken hau 100µl *Binding Solution*ekin nahastu eta silize-mintz iragazkira pipeteatu zen. *Binding Solution*ek RNA silize-mintz iragazkian itsatsita gera zedin eragin zuen. Honela, RNA ez zen materiala iragazkian behera joan zen, RNA bakantzea ahalbidetuz. Azkenik, silize-mintz iragazkiari hodi biltzaile berri bat erantsi, 40 µl ur gehitu eta 11000 x g-ra zentrifugatu zen minutu batez. Honela, uretan disolbatutako RNA eskuratu zen.

RNA kontzentrazioa eta kalitatea zehaztea

Lortutako RNAREN gainean lan egiten hasi aurretik, honen kalitatea eta kontzentrazioa behatu ziren espektrofotometria bidez. Horretarako azido nukleikoen eta proteinen kuantifikaziorako Take 3 multibolumen plakan lagin bakoitzeko bina mikrolitro erein ziren. Plaka Synergy HT irakurgailuan sartu, eta Gen 5 1.11 programaren bidez aztertu zen RNA kantitatea (BioTek Instruments, Inc., Winooski, EE.UU). Ondoren, programak kalitate irizpideak eta kontzentrazioa eskaini zituen: Laginek 1,8 eta 2ren arteko kalitate balio egokiak erakutsi zizkiguten. Balio txikiagoek kutsatzaileen eragina edo laginak hondatu izana adieraziko

luketeen. Laginen RNA kopurua zehazteko aldiz, balizko kontzentrazioak 0,5 ng/ μ l y 5 μ g/ μ l artean kokatu ziren.

RNA kopurua berdintzea

Ondoren, lagin guztien RNA kantitatea berdintzeari ekin zitzaion, anplifikazio prozesu zehatzagoa ahalbidetzeko. Horretarako, xede kontzentrazioa RNA gutxien zuen laginak finkatu zuen, eta gainerako laginak RNAasa eta DNAasa gabeko urarekin osatu ziren 8 μ l-ren barruan gutxieneko kontzentrazio horretara doitu arte. Azkenik, -80°C-ra gorde ziren laginak PCR prozedura hasi arte.

Polimerasa kate-erreakzioa atzeranzko transkripzioan

RT-PCR analisia hasi aurretik beharrezkoa zen *primer* edo hasleak diseinatzea. Horretarako, xede geneen DNA sekuentziak Bioteknologia Informaziorako Zentru Nazionaleko GenBank datu basetik hartu ziren (www.ncbi.nlm.nih.gov). Hasleen sekuentziaren diseinurako Primer Express softwarearen 3. bertsioa erabili zen (Applied BioSystems, Madril, Espainia). Aukeratutako hasleek xede genearekiko zuten zehaztasun maila BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) programaren bidez (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) egiaztatu zen. Hasleak Applied Biosystems-ek (Madril, Espainia) sintetizatu zituen 10 nM-ko kontzentrazioan formatu liofilizatuan. RNAasa eta DNAasa gabeko ura gehituz 13 μ M-ko kontzentrazioa eraman ziren hasleak.

Hasleak prestatu ondoren, atzeranzko transkripzioa bi urratsetan bete zen:

1.- RNAaren atzeranzko transkripzioa: Prozesu honetan laginen RNAtik cDNA (DNA osagarria) transkribatu zen PrimeScript RT reagent kit-a erabiliz (Takara Bio Inc., Madril, Spain). Lehenik, 8 μ l lagin sartu ziren PCR-rako hodi termiko berezi batean, zeinari aurrez 16 μ l retrotranskriptasa entzima tanpoi gehitu zitzaizkion, 4 μ l Prime Script RT entzima, 4 μ l ausazko hasle hexameriko (Random Primers), 4 μ l DNAc sintesia abiatzeko hasle, eta 44 μ l DNA eta RNA gabeko ur. Azkenik hodiak nahastu (Vortex Genie 2, Sigma-Aldrich, Madril, Espainia) eta jarraian, laginak 7500 Real-Time PCR sistemara (Applied Biosystems, Madril, Espainia) sartu ziren atzeranzko transkripzioa martxan jarri zedin baldintza hauetan: 37°C 15 minutuz, 85°C 5 segundoz eta azkenik 4 °C. Laginak atera eta -20°Cra gorde ziren.

2.- cDNA anplifikatzea: Aurreko urratsean lortutako cDNAren espresio genikoa aztertu zen denbora errealeko PCR bidez. Xede gene bakoitzerako SYBR Green teknikan oinarritutako kita erabiliz (SYBR®Premix Ex Taq™, Takara Bio Inc., Madril, Espainia). Horretarako, 96 putzutzoko plakak erabili ziren, eta putzutxo bakoitzean honako nahasketaren 25 μ l jarri ziren: RNasa y DNAasa gabeko 9 μ l ur, 12,5 μ l SYBR Premix Ex Taq II fluorokromo, 0,5 μ l ROX erreferentziazko koloratzailea, 0,5 μ l hasle zuzen eta beste horrenbeste atzeranzko hasle, eta bukatzeko 2 μ l lagin cDNA. Lagin bakoitza hirukoiztuta erein zen. Plaka zigilatu eta 400 x g-ra zentrifugatu zen 3 minutuz giro tenperaturan. Ondoren, plaka PCR tresnara sartu eta anplifikazio prozesuari ekin zitzaion. Denbora eta tenperatura baldintza berberak erabili ziren gene guztientzat, fusio

temperaturaren (Tf) kasuan izan ezik, espezifikoa baita gene bakoitzean. Horrela bada, amplifikazio baldintza orokorrak hauexek izan ziren: 30 segundoko lehen zikloa 95°C-tan, jarraian 40 amplifikazio ziklo, bakoitza 95°C-ko 5 segundo eta Tf-ko 34 segundoz osatua, eta azkenik, fusio kurba edo *melt curve* lortzeko fasea (15 segundo 95°Ctan, minutu bat Tf-ra eta 15 segundo 95°C-ra).

Emaitzen balorazioa

RNA espresio genikoaren RT-PCR bidezko neurketa erlatiboa da, izan ere, xede genearen eta erreferentziako geneen arteko konparaketan oinarritzen da. Beraz, geneen espresio erlatiboa zehazteko, erreakzioan fluoreszentzia areagotze esanguratsu bat egoteko behar izan diren ziklo kopuruari dagokion Ct balioak hartu ziren kontuan, eta $2^{-\Delta\Delta t}$ metodoa aplikatuz (Livak eta Schmittgen, 2001) tratatu ziren datuak. Glizeraldehido-6-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) eta hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa (HPRT) erabili ziren erreferentziako gene gisa, eta xede geneak 1. taulan ageri dira.

1. taula. PCR primerren zehaztasunak

Genea	Funtzioa	Primer sekuentzia (5'→3')	Aztertutako egitura	GenBank sarbide zk.
IL-1β	Zitokina proinflamatorioa	F: GATGATAACCTGCTGGTGTGTGA R: GTTGTCATCTCGGAGCCTGTAG	Hipokanpoa	NM_008361.3
IL-6	Zitokina proinflamatorioa	F: AGCCAGAGTCCTTCAGAGA R: TCCTTAGCCACTCCTTCTGT	Hipokanpoa	NM_031168.1
IL-10	Zitokina antiinflamatorioa	F: GCCAAGCCTTATCGGAAATG R: CCGCATCCTGAGGGTCTTC	Hipokanpoa	NM_010548
TNF-α	Zitokina proinflamatorioa	F: GACGTGGAAGTGGCAGAAGAG R: TGCCACAAGCAGGAATGAGA	Hipokanpoa	NM_013693.2
ERα	α estrogenu hartzailea	F: AAGGCGGCATACGGAAAGA R: CATTCGGCCTCCAAGTCA	Hipokanpoa Hipotalamoia	NM_007956
ERβ	β estrogenu hartzailea	F: CCAGACTGCAAGCCCAAATGT R: AGAAGCGATGATTGGCAGTGG	Hipokanpoa Hipotalamoia	NM_207707
GR	Hartzaile glukokortikoidea	F: CCCATGGAGGTAGCGATTGT R: TGTAAGGCTGCCCAATGTGT	Hipotalamoia	X66367.1
MR	Hartzaile mineralokortikoidea	F: ACCTGCAGAGAGGACCAATGA R: GGAGTAATTCGTGTTTTCTTTGCT	Hipotalamoia	AJ311855.1
IDO	Triptofanoaren katabolismorako entzima mugatzailea	F: AAAGCAATCCCCACTGTATCCA R: TGCCTTTTCCAATGCTTTCAG	Hipokanpoa	BC049931.1

GAPDH	Glizeraldehido-6- fosfato deshidrogenasa	F: CGGCCGCATCTTCTTGTG R: GTGACCAGGCGCCCAATAC	Hipokanpoa Hipotalamo	NM_008084.2
	HPRT	Hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa	F: TGGGAGGCCATCACATTGT R: TCCAGCAGGTCAGCAAAGAAC	Hipokanpoa Hipotalamo

3.1.5.7 Monoamina, metabolito eta amino azidoak zehaztea

Garun egituretako aktibitate monoaminergikoa aztertzeko, DA, NA eta 5-HT mailak aztertu ziren, baita haietako bakoitzaren metabolitoak ere: azido 3,4-dihidroxifenilazetikoa (DOPAC), 3-metoxi-4-hidroxifenilglikola (MHPG) eta azido 5-hidroxiindoleazetikoa (5-HIAA) hurrenez hurren. Bestetik, serotoninaren aitzindari den TRYP ere analizatu zen, baita triptofanoaren bide metabolikoaren adierazle diren KYN eta 3-HK ere. Analito horiek guztiak bereizmen handiko kromatografia likido bidez neurtu ziren (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC).

HPLC teknikak lagin bateko analitoak beren ezaugarri kimikoen arabera bereizi, identifikatu eta kuantifikatzean datza. Analisi horietarako, Agilent 1200 LC system-en HPLC tresna (Agilent Technologies, Madril, Spain) erabili zen. Ekipoa honako gailuek hornitzen zuten: hutsezko desgasifikatzailea, bonba kuaternarioa eta injektore automatiko errefrigeratua. Baita bi detektagailuk ere, bata fluoreszentsiazkoa eta bestea uhin aldakorrerakoa. Bereizketa kromatografikoa kartutxo babesledun Poroshell 120 EC-C18 zutabean (100 × 4.6 mm, 2.7 μm)

gauzatu zen. Zutabea 30°C-ra mantendu zen analisiak osatu bitartean, eta laginak 4°C-ra.

Baldintza kromatografikoak

Osagaiak garraiatu zituen fase higikorreko A disolbatzaileak %0.05 azido trifluoroazetikoan zetzan, eta B disolbatzaileak azetonitriloan. Lagin bakoitzaren analisi denbora 25 minutukoa zen, eta denbora horretan zehar fase higikorreko disolbatzaileen ehunekoak 2. Taulan ageri diren proportzioak errespetatu zituen, betiere 0,5ml/min-ko fluxuaren barruan.

Kalibrazio kurba prestatzea: Kalibrazio kurba analito sintetikoekin egindako kromatograma batek osatzen du, eta erreferentziatzat hartzen da laginetan atzeman nahi diren xede-analitoak identifikatzeko. Kalibrazio-analito sintetikoak Sigma-Aldrichetik (Madril, Espainia) lortu ziren, eta analito horietako bakoitza 0,1 N azido klorhidrikotan disolbatu zen 1000 ppm-ko (milioiko parte) kontzentrazioan. Disoluzio horretatik abiatuta, kalibrazio-analito bakoitza 0,5 ppm-ko kontzentrazioa eraman zen ur ultrapurua gehituta (Millipore, Madril, Espainia), Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorrak (SGIker, UPV/EHU) sortutako protokoloari jarraiki. Jarraian, kalibrazio-analito bakoitzaren disoluziotik 500 µl hartu, eta matraz batean nahastu ziren. Gero, nahasketa 10 ml-ra berdindu zen ur ultrapuruarekin. Horrela, analito guztiak barne-hartzen zituen kalibrazio kurba lortu zen. Ondoren, prestaketa hau 50 µl-ko alikuotetan gorde zen -80°Cra. Azkenik, HPLC sisteman kalibrazio kurbaren 20µl txertatu ziren

kalibrazioa taula sortu eta aurrerantzean analizatuko ziren laginak identifikatu eta kuantifikatzeko erreferentzia gisa balio zezan.

Laginak prozesatzea: Izoztutako garun egiturak balantza analitiko batean pisatu ziren (Mettler-Toledo International, Inc., Columbus, OH, EE.UU.). Jarraian, zirkonio oxidozko bolatxoaren pisu baliokidea eta 60 µl %1eko azido formikodun azetonitriloa gehitu eta Bullet Blenderrean (BBY24M Bullet Blender Storm, Next Advance, Nueva York, EE.UU.) 3 minutuz eta 8ko abiaduran jarri ziren apurketa zelularra eragiteko. Jarraian, gainjalkina 15 minutuz zentrifugatu zen 15000 x g-ra 4°C-tan. Gero, laginak kontzentratzeko 30 minutuz aire konprimatuarekin lurrundu eta 30 µl %0,05 azido trifluorazetikorekin berrosatu ziren, ondoren 20 minutuz 15000 xg-ra eta 4°C-an zentrifugatzeko. Azkenik, lagin bakoitzeko 20 µl txertatu ziren HPLC-an analizatzeko.

Lagineko analitoak bereiztea: Lagineko xede-analitoak bakandu ahal izateko, fase higikorren eta fase egonkorren polaritate diferentzia baliatu zen. Batetik, lagina garraiatzen zuen fase likido higikorra polarra zen. Bestetik, bereizketa gertatzen zeneko zutabe kromatografikoa, fase egonkor solidoa alegia, apolarra zen. Funtsean, lagina fase higikorreko korrontera txertatu zen, korrontearekin batera zutabe apolarrean barrena igaro zedin. Bertan, analito bakoitza bere ezaugarri kimikoen arabera, abiadura jakin batean atxiki zen zutabera, beste analitoengandik bananduz. Azkenik, atxikipen denbora eta gailur kromatografikoaren

azalera kontuan izanda, analitoak identifikatu eta kuantifikatu ziren, beti ere kalibrazio kurba erreferentzia gisa hartuta.

Datuak prozesatzea: Datuak Agilenten LC sistementzako HP ChemStation (Hewlett Packard, Waldbronn, Alemania) softwarearekin prozesatu ziren, analito ezberdinen zenbatekoa euren gailurren azalera kalibrazio-kurbakoekin alderatuz kalkulatu zen. Gero, lortutako balioa hasieran erregistratutako garun egituraren pisuarekin (mg) zatitu zen. Azken datua ehun hezeko pg/mg-tan azaldu zen. Kinureninari dagokionean, absorbantzia indarra baxuegia zela eta kontzentrazio jakin bat kalkulatu ezin zitzaien laginei, kontzentrazio detektagarri baxuena esleitu zitzaien.

2. taula. Baldintza kromatografikoak.

ANALISI DENBORA (minututan)	B DISOLBATZAILEAREN BOLUMENA (ehunekotan)
0-8	6
8-15	10
15-22	20
22-25	2

DA, DOPAC, NA eta MHPG erregistratzeko, igorpen uhinak 320 nm-ra finkatu ziren, eta 5-HT, 5-HIAA eta TRYP-entzako 366 nm-ra. Eszitazio uhinak 210 nm-ra finkatu ziren analisi horietan. Aldiz, KYN eta 3-HK-ren efluenta uhin aldakorreko detektagailua 360 nm-ra jarrita monitorizatu zen.

Erabilitako errektibo eta produktu guztiek beharrezko kalitate analitikoa errespetatu zuten eta soluzioak prestatzeko Milli-Q sistemak araztutako (Millipore, Espainia) ur ultrapurua erabili zen. Fase higikorra egunero prestatu eta iragazi zen 0,22 μm -ko Durapore iragazkian (Millipore, Madril, Espainia).

3.1.6 ANALISI ESTADISTIKOAK

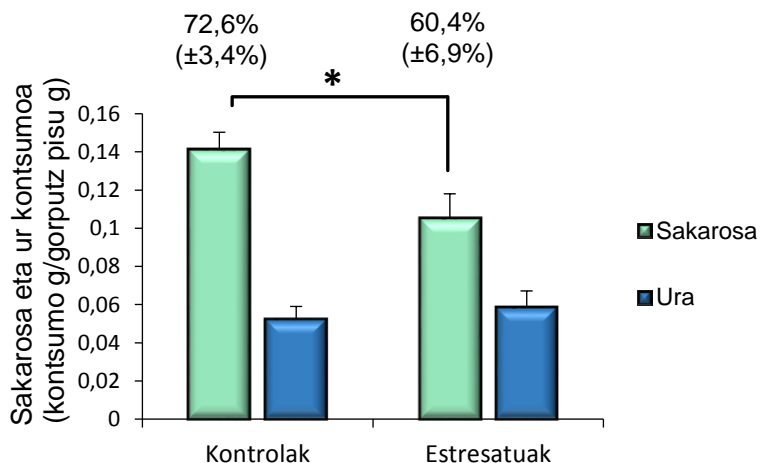
Analisi estatistiko oro Windowserako SPSS 22 erabiliz burutu zen (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA), eta esangura-maila $p < 0.05$ -ean doitu zen. Normaltasun eta homogeneotasun irizpideak errespetatu ziren eta *outlier*-ak *boxplot outlier labeling rule* jarraituta ezabatu ziren. Aldagai fisiologiko eta jokabidezkoak faktore bakarreko bariantza-analisia (*analysis of variance*, ANOVA) edo neurketa errepikatuetarako faktore biko ANOVA erabiliz aztertu ziren. Ziklo estraleko eta *whisking* jokabideko ezberdintasunak McNemar-en testa eta Fisher-en test zehatza erabiliz aztertu ziren hurrenez hurren.

3.2 EMAITZAK

3.2.1 LAU ASTEKO ESKE-REN ERAGINA SAGU EMEEN JOKABIDEAN

3.2.1.1 SPT proba, jan kontsumoa eta gorputz pisua

Faktore bakarreko bariantza-analisiari erreparatuta, sagu estresatuak kontrolek baino sakarosa gutxiago kontsumitu zutela aurkitu zen ($F_{[1,30]}=5.174$; $p=0.031$). Era berean, sakarosarekiko lehenespena aztertzerakoan, estresatuak %60,4-ko lehenetasuna erakutsi zuten kontrolen % 72,6aren aldean, baina ezberdintasun hori ez zen esanguratsua ($F_{[1,30]}=2.38$; $p=0.133$) (1. grafikoa). Jan kontsumoari zegokionean, ez zen taldeen arteko ezberdintasunik aurkitu, ezta gorputz pisuari zegokionean ere.

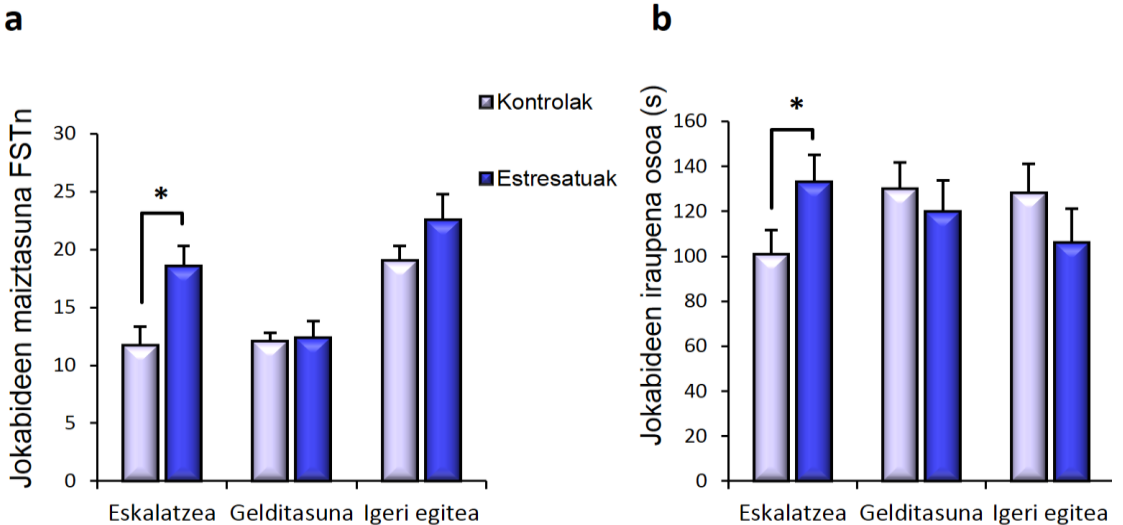


1. grafikoa. Sakarosa kontsumoa. Gorputz pisuarekiko sakarosa kontsumo erlatiboa kontrol taldean ($n=15$) eta estres taldean ($n=16$). Zutabeen gaineko

zenbakiak sakarosarekiko lehen tasun portzentajea adierazten dute. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). $*p<0.05$.

3.2.1.2 FST proba

Bariantza-analisiaren arabera, estresatutako saguek kontrolak baino maiztasun handiagoz ekin zioten eskalatze jokabideari ($F_{[1,29]}=6.75$; $p=0.015$), eta guztira eskalatzen emandako denbora ere handiagoa izan zen talde estresatuan ($F_{[1,29]}=6.24$; $p=0.018$) (2a eta b grafikoak). Bestalde, ez zen taldeen arteko ezberdintasunik aurkitu gelditasun eta igeriketa jokabideetan.

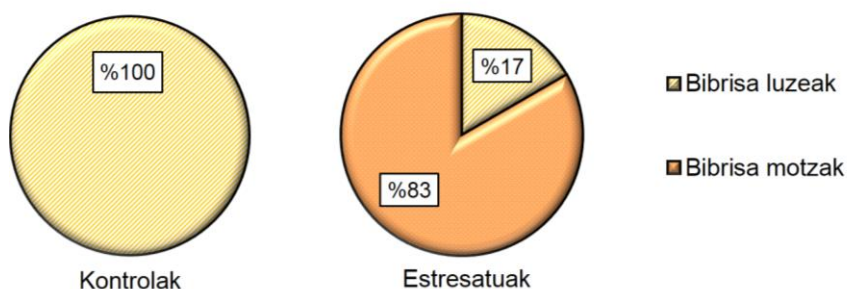


2. grafikoa. FST probako jokabidea. Eskalatze, gelditasun eta igeriketa jokabideen maiztasuna (a) eta iragandako denbora osoa (b), kontrol talde ($n=15$)

*nahiz estres taldearentzat (n=16). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm BEE). * $p < 0.05$.*

3.2.1.3 Whisking jokabidea

Fisherren test zehatzaren arabera, talde estresatuko bibrisa motzen ehunekoa kontrol taldekoa baino handiagoa zen. Hain zuzen ere, kontrol taldeko sagu guztiek bibroteak osorik zituzten, estresatuen %83ak motzak zituen bitartean (*odds ratio*=5.0, $p < 0.001$) (3. grafikoa).

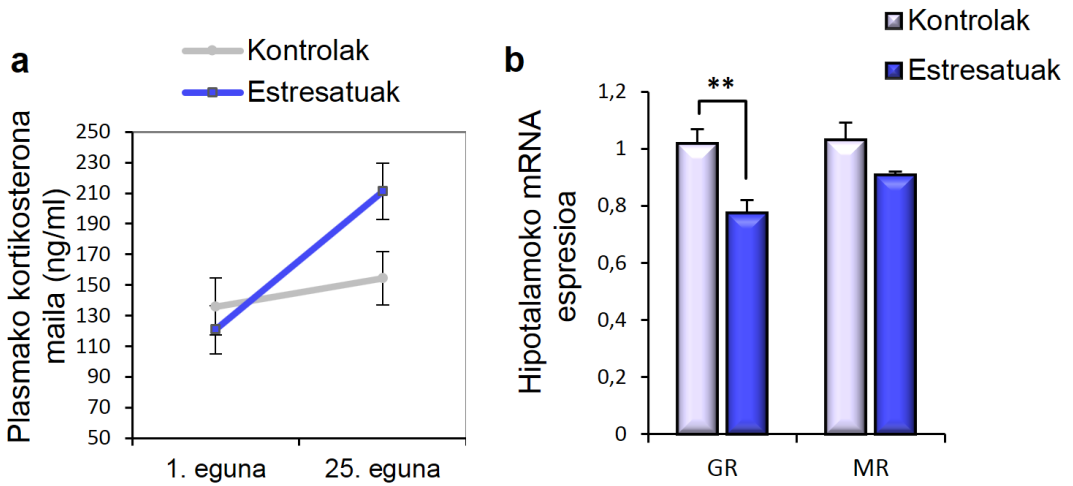


3. grafikoa. Whisking jokabide zeinuak. *Bibrisen motzen banaketak 0/15 kasu erakutsi zituen kontrol taldean eta 12/16 kasu estres taldean.*

3.2.2 LAU ASTEKO ESKE-REN ERAGINA SAGU EMEEN FISILOGIAN

3.2.2.1 HPA ardatza: plasmako kortikosterona maila eta hipotalamoko hartzaile glukokortikoideen mRNA espresioa

Lagin errepikatuentzako bi faktoretako ANOVAK (*taldea* eta *denbora*) ezberdintasun esanguratsuak aurkitu zituen *denbora* faktoreari eta *denbora x taldea* elkarrekintzari zegokionean. Zehazki, kortikosterona mailak denborarekin kontrol zein estresatuetan gora egin zuela adierazi zuen ($F_{[1,60]}=23.08$; $p < 0.001$). Elkarrekintzak aldiz 1. egunetik 25. egunera gertatutako kortikosterona igoera hori talde estresatuan handiagoa izan zela argitu zuen ($F_{[1,60]}=10.04$; $p=0.002$). Zentzu berean, aldaketa-aldagaiak estresatuen igoera kontrolena baino handiagoa zela erakutsi zuen ($F_{[1,60]}=4.18$; $p=0.045$) (4a grafikoa).



4. grafikoa. HPA ardatza. (a) Plasmako kortikosterona (ng/ml) 1. eta 25. egunetan kontrol (n=30) zein stres taldeetan (n=32). (b) Hipotalamoko GR eta MR-en mRNA espresioa kontrol (n=15) eta estresatueta (n=16) ESKE ondoren. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm BEE). ******p<0.01.

Hipotalamoko GR-en mRNA espresioa ANOVA bidez aztertzerakoan, talde estresatuak espresio murriztagoa erakutsi zuen kontrol taldeak baino ($F[1,29]=11.43$; $p=0.002$). MR-en mRNA espresioa aztertzerakoan ez zen talde ezberdintasunik aurkitu (4b grafikoa), ez eta bien arteko ratioa (GR/MR) aztertzerakoan ere.

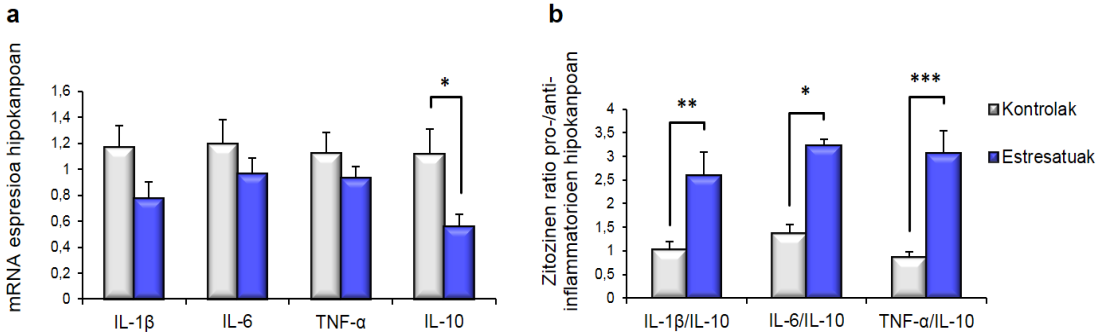
3.2.2.2 HPG ardatza: plasmako estradiol maila, hipotalamo eta hipokanpoko ER- α eta ER- β -ren mRNA espresioan eta ziklo estrala

Bariantza-analisiak ez zuen ezberdintasunik bistaratu plasmako estradiol mailan estresa amaitutakoan ($F_{[1,30]}= 0.75$; $p=0.099$) (5a grafikoa). Hipotalamoko ER- α eta ER- β -ren espresioari zegokionean ere ez zen alderik igarri (5b grafikoa), ez eta hipokanpokoan ere. ER- α /ER- β ratioa ere berdina zen bi taldeentzat hipotalamo zein hipokanpoan. Lagin errepikatuko McNemarren testaren arabera, estres taldeko saguen ziklo estraleko faseek luzeago irauten zuten estresaldi ostean hasieran baino. Zehazki, sagu kontrolen %80ak faseen hasierako iraupen berbera zuen ($df=1$, $N=30$; $p=0.687$), estresatuetan kopuru hori %41era mugatzen zen bitartean ($df=1$, $N=32$; $p<0.001$).

3.2.2.3 Zitokina pro- eta anti-inflamatorioen etaIDO-ren mRNA espresioa hipokanpoan

Bariantza-analisiak erakutsi zuenez, sagu estresatuek IL-10 mRNA maila baxuagoa zuten hipokanpoan kontrolek baino ($F_{[1,27]}=5.55$; $p=0.027$). Aztertutako gainerako zitokinetan (IL-1 β , IL-6 eta TNF- α) ez zen

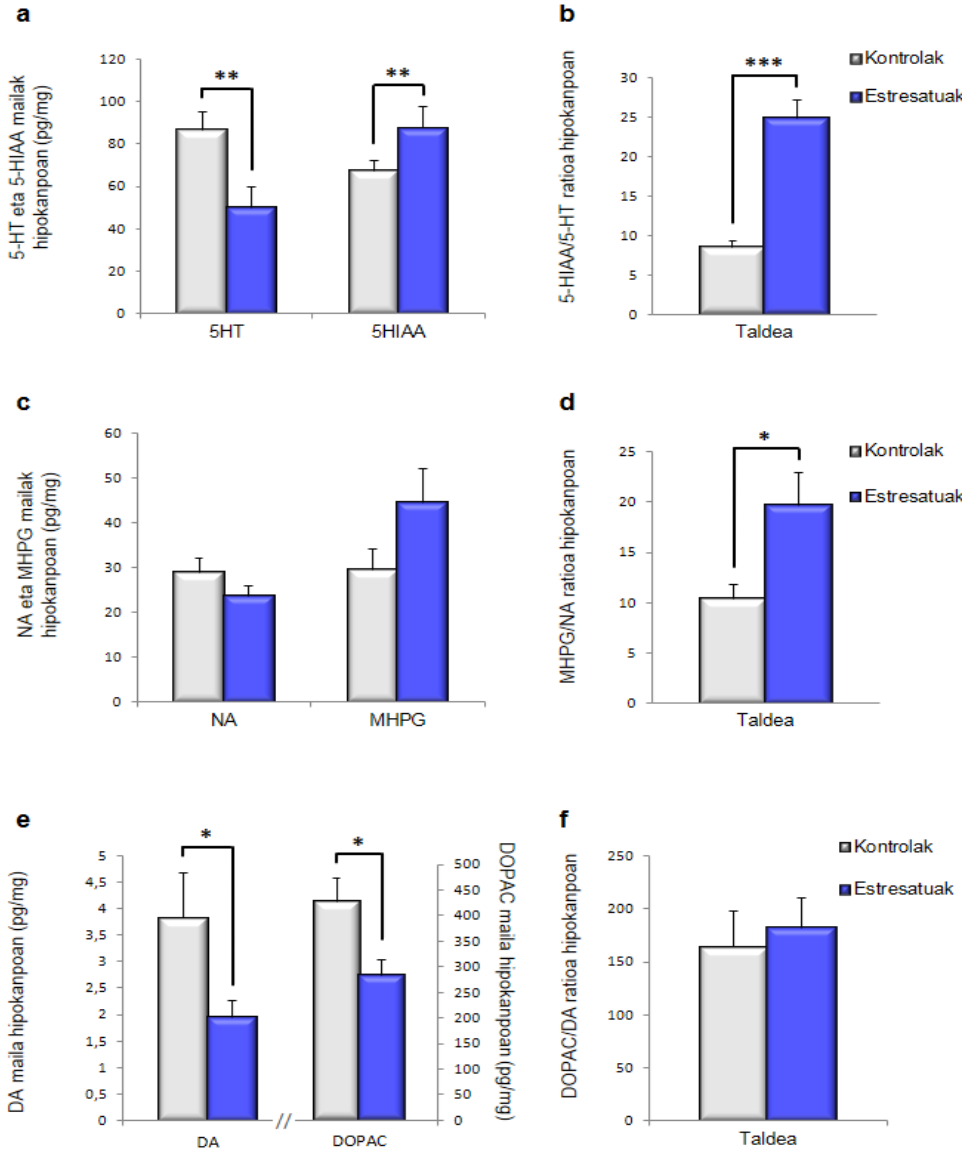
taldeen arteko ezberdintasun esanguratsurik aurkitu (6a grafikoa). Hala ere, zitokinen balantzea behatzean, sagu estresatuak ratio pro-/anti-inflamatorio areagotua erakutsi IL-1 β /IL-10 ratioan ($F_{[1,27]}=11.42$; $p=0.002$), IL-6/IL-10 ratioan ($F_{[1,27]}=5.39$; $p=0.029$) eta TNF- α /IL10 ratioan ($F_{[1,27]}=27.17$; $p<0.001$) (6b grafikoa).IDO-ren mRNA espresio mailak ez zuen alderik taldeen artean.



5. Grafikoa. Hipokanpoko zitokinen espresioa. (a) IL-1 β , IL-6, TNF- α eta IL-10ren mRNA espresio maila erlatiboak, eta (b) zitokina pro-inflamatorio eta anti-inflamatorioen arteko ratioak hipokanpoan talde kontrolean ($n=13$) eta estres taldean ($n=15$). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm BEE). * $p<0.05$, ** $p<0.01$ eta *** $p<0.001$.

3.2.2.4 Hipokanpoko monoaminen, metabolitoen eta amino azidoen maila

Bariantza-analisisa egindakoan, sagu estresatuek hipokanpoan 5-HT maila txikiagoa ($F_{[1,29]}=9.73$; $p=0.005$) eta 5-HIAA maila handiagoa ($F_{[1,29]}=9.42$; $p=0.005$) zutela aurkitu zen, kontrolekin konparatuta (7a grafikoa). Halaber, 5-HIAA/5-HT ratio ere handiagoa zen talde estresatuan ($F_{[1,29]}=21.82$; $p<0.001$) (7b grafikoa). Aktibitate noradrenergikoa aztertzean, ez zen ezberdintasunik aurkitu NA eta MHPG mailetan, baina MHPG/NA ratioa handiagoa zen sagu estresatuetan ($F_{[1,26]}=6.34$; $p=0.019$) (7c eta d grafikoa). Talde estresatuak DA ($F_{[1,26]}=4.98$; $p=0.035$) eta DOPAC ($F_{[1,26]}=7.07$; $p=0.018$) maila txikiagoak zituen, DOPAC/DA ratioari erreparatzerakoan ezberdintasunik antzeman ez bazen ere (7e eta f grafikoa). Ez zen ezberdintasunik aurkitu TRYP, KYN eta 3-HK mailetan, ez eta zegozkien ratioetan ere.



6. grafikoa. Hipokanpoko aktibitate monoaminergikoa. Hipokanpoko monoamina eta metabolito mailak (ehun heze pg/mg) eta haien arteko ratioak kontrol taldean (n=15) eta estres taldean (n=16): (a) 5-HT eta 5-HIAA mailak, (b) 5-HIAA/5-HT ratioa, (c) NA eta MHPG mailak, (d) MHPG/NA ratioa, (e) DA eta

*DOPAC mailak eta (f) DOPAC/DA ratioa. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm BEE). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ eta *** $p < 0.001$.*

3.3 EZTABAIDA

Lan honek ESKE ereduak emeetan estresari lotutako nahasmenduak ikertzeko duen baliozkotasunaren inguruan zenbait ekarpen egin ditu. Aurreko lanek karraskari emeetan aurkitutako HPA ardatzeko aldaketak berrestez gain, aurrez ikertu gabeko zitokina eta monoamina zentralen gaineko datuak eskaini ditu. Hain zuzen ere hipokanpoko IL-10 mRNA espresioa gutxitua eta egitura bereko aktibitate monoaminergiko erasana aurkitu ditugu sagu emeetan, aldaketa horiek antsietate eta depresio-motako jokabideekin batera agertu direlarik.

Anhedonia depresioaren sintoma bereizgarritzat hartzen da, plazerarekiko interes eza adierazten du eta garuneko sari sistema erasanarekin lotu da animalia nahiz gizakietan (Berridge eta Kringelbach, 2008). Espezie desberdinen arteko antzekotasun hori dela eta, anhedonia endofenotipoan oinarritutako gerturatzean, sakarosa lehenespena proposatu da animalien depresio-motako sintomatologia antzemateko irizpide nagusitzat (Slattery eta Cryan, 2017). Lan honetan lau astez ESKE nozitutako saguek sakarosa soluzioaren (0.8%) kontsumo murriztua azaldu dute 24 orduko SPT proban, anhedoniaren seinale. Estres-eredu eta iraupen berberekin beste horrenbeste aurkitu zuten Dadomo et al. (2017); eta Herzog et al.-ek (2009) sagu eta arratoi emeetan hurrenez hurren, ez ordea Nowacka et al.-ek (2014). Desadostasun hori, beste faktore batzuen artean, estres protokoloan eta anhedonia ebaluatzeko erabilitako metodoan dauden ezberdintasunen mende egon liteke.

Bestalde, Herzog et al.-en (2009) gertatu moduan, FST proban ez zen aldaketarik hauteman gelditasun jokabidean, eta azken hau depresio-antzerako jokabide esanguratsutzat luze hartu izan bada ere, kontuan edukitzekoa da azken urteotan eztabaidagai bihurtu dela gelditasunak FST proban depresioari lotutako etsipena ala estresarekiko aurre egite pasiboa adierazten ote duen (De Kloet eta Molendijk, 2016). Hala ere, proba honetan estresak eskalatze jokabidean iragandako denbora totala eta jokabide honi ekiteko maiztasuna areagotu dituela aurkitu dugu. Eskalatzea jokabide aktibo gisara interpretatu izan da maiz, baina haren areagotzea antsietate adierazletzat ere hartu izan da ezegonkortasun sozial kronikoa jasandako arratoi arretan (McCormick eta Green, 2013). Ildo horretatik, ezegonkortasun sozial kronikoak karraskari emeetan agerrarazitako antsietate-motako jokabideen berri eman dute aurreko lanek ere. Kasurako, janari berri atsegingarriaren testean (*novel palatable food test*, NPFT), eremu ezezagun batean arbendola jaten hasterako denbora gehiago behar izan zuten ESKE jasandako saguek kontrolek baino (Schmidt et al., 2010). Aitzitik, ikerlan horretan bertan antsietate-motako jokabidea ebaluatzeko erabiltzen den goratutako gurutze formako labirintoaren proban (*elevated plus maze*, EPM) ez zen estresatu eta kontrolen arteko alderik aurkitu. Jarcho et al.-ek (2016) ere ez zuten ESKE-ren araberako ezberdintasunik aurkitu EPM probako adar ireki/itxietan pasatako denboran, ezta OFT proban erdialdean/periferian iragandako denboran ere, baina ezberdintasunak aurkitu zituzten rearing edo zutitze

jokabidean, zeina antsietate irizpidetzat hartzen den (Rodgers et al., 1997; Rodgers eta Johnson, 1995).

Azpmarragarria da depresioa eta antsietate-motako jokabideak hautemateko erabiltzen diren testetan tradizionalki deskribatu ez diren jokabideak azaldu direla karraskari emeetan, hala nola, eskalatzea eta buru-astintzea FST proban. Zentzu horretan kontuan izan behar da neurozientzia ikerketetan emeak ez direla subjektu esperimental moduan aintzat hartu denbora luzean, eta giza nahasmenduak idurikatzeko sortutako animalia ereduak aranganako isuria dutela, jokabide probak barne (Beery eta Zucker, 2011; Caroline Blanchard, 1995; Zucker eta Beery, 2010). Hortaz, aurrez finkatu gabeko jokabide aldaketak antzematea berebizikoa izan daiteke sintomatologia interpretatzeko garaian, baita antsietate edo depresio egoera bi sexuetan berariaz islatzen dituzten irizpideak ezartzeko garaian ere (Kokras eta Dalla, 2017).

Elkarri usaina hartzea bezalako oinarritzko jokabideak bi sexuetan komunak badira ere, arrekin alderatuta emeek nekez erakutsiko dute lurralde-erasorik, kumeak babesten ari ez badira bederen (Solomon, 2017). Zenbait erregistrok sagu emeek hierarkia soziala finkatzerakoan bestelako jokabide agonista sorta bat baliatzen dutela adierazten dute, tartean esestea edo pertsekuzioa, azpian hartzea, *grooming* oldarkorra eta *barbering* jokabidea direlarik (Allen, Cragg, Wood, Pfaff eta Choleris, 2010; Bartolomucci et al., 2005; Clipperton-Allen et al., 2011; Garner, Dufour, Gregg, Weisker eta Mench, 2004). Horrela bada, ikerlan honetan

barbering edo ilaje/bibote mozte jokabidearen *whisking* aldagaia aztertu zen. *Whisking*-ak muturreko bibrisei eragiten die, espezie-kide bati zuzentzen da eta sexuaren eta arrazaren arabera maizago gerta daiteke (Garner et al., 2004; Kalueff et al., 2006; Reinhardt, 2005). Hierarkia soziala ezartzearekin lotzeaz gain, estresak abiarazitako jokabide erantzun gisara ere gerta daiteke (Kalueff et al., 2006), eta sagu batek modu errepikatuan egindako gehiegizko *barberinga* nahasmendu obsesibo-konpultsiboarekin lotu da (Garner, Dufour, et al., 2004; Garner, Weisker, et al., 2004). Egunerokotasunean, saguek aktiboki erabiltzen dituzte biboteak inguruarekin elkarreragiteko, eta harraparietatik ihes egin edo bizirauteko baliabideak bilatzeko informazio sentzoriala jasotzen dute haien bidez (Prchal, Albarracin eta Decima, 2004; Prigg, Goldreich, Carvell eta Simons, 2002). Hori dela eta, saguen bibrisen asaldurak animalari orientazioa galarazi diezaioke, antsietate egoerara bultzatuz (Kalueff et al., 2006). Aztergai dugun esperimentuan estresatutako saguen gehiengoak bibrisa moztuak zituela ikusi zen, kontrol taldekoek bibrisak osorik zeuzkaten bitartean, lehenengo taldea antsietate egoeran edota antsietatera eraman dezakeen egoeran aurkitzen zela iradokiz.

Subjektu esperimental emeen inguruan, zenbait egilek uste du ziklo estralak eragindako aldakortasuna dela eta emeen jokabidea eta biologia ezegonkorrak direla, eta datu interpretagarriak lortu ahal izateko emeak ziklo estraleko lau faseetako bakoitzean monitorizatu behar direla (Wald eta Wu, 2010). Aitzitik, azken urteotan neurozientzien esparruan egindako meta-analisi eta ikerketa batzuen arabera, ziklo estraleko fase

ezberdinetan ausaz analizatutako emeek ez dutela arrek baino aldakortasun handiagoa (Mogil, 2016; Prendergast et al., 2014), faseen jarraipena egitea beharrezkoa ote den ezbaian jarritz. Gure ikerketaren testuinguru zehatzean kokatuz, estresari lotutako nahasmenduak neurtzeko erabilitako jokabide probetan emaitza kontrajarriak aurkitu dira zikloko faseek izan dezaketen eraginaren inguruan (Kokras eta Dalla, 2014).

Aztergai dugun esperimentuan, plasmako estradiol mailak eta hipotalamo eta hipokanpoko estrogenu hartzaileen espresioak ez dute estresaren araberako aldaketarik azaldu. Hortaz, estrogenuok ez dute antza eraginik izan anhedonia jokabidean, ez eta 29. egunean neurtutako aldagai biologikoetan ere. Beste ikerketa batean ere, depresio-motako jokabidea agertutako arratoi emeetan ez zen ziklo estraleko faseen araberako ezberdintasunik aurkitu triptofanoaren bide metabolikoa osatzen zuten konposatuetan (Eskelund et al., 2016). Zikloko faseen eta beste aldagai biologiko edota jokabide aldagaien arteko balizko elkarrekintzak alde batera utzita, ezagun da estresak ziklo estrala etetea eragin dezakeela animalia nahiz gizakietan (Witorsch, 2016), ingurunea mehatxagarria denean ugaltzeak dakartzan energia gastua eta zaurgarritasuna arriskutsuak baitira organismoarentzat. Zentzu horretan, aztergai dugun esperimentuan ESKE jasotako saguek ziklo estraleko fase luzeagoak zituzten kontrolen aldean, ehuneko handi batek 4 egun fase berean igaro zituelarik, estresak eragina izan duenaren seinale.

Aktibitate monoaminergiko zentralari helduz, estresak aktibitate serotonergikoa eta noradrenergikoa handitzea eragin du, hipokanpoko MHPG/NA eta 5-HIAA/5-HT ratio areagotuek erakusten dutenez. Aldaketa horiek FST probako jokabide aktiboekin loturarik badutela ikusi da aurreko ikerlan batzuetan, zehazki eskalatze eta igeri egite jokabideekin hurrenez hurren (Cryan et al., 2005; Detke et al., 1995; McCormick eta Green, 2013). Esperimentu honetan eskalatze jokabidearen areagotzea aktibitate noradrenergiko handiagoarekin bat badator ere, ez da aldaketarik aurkitu igeri egite jokabidean, nahiz eta aurkitutako aktibitate serotonergiko handitua kontuan izanda zilegi zitekeen. Zentzu horretan, kontuan izan behar da estresak serotonina maila gutxitzea ere eragin duela, eta hortaz baliteke 5-HIAA/5-HT ratio handiak eragin zezakeen igeri egite jokabidea 5-HT maila baxua medio indargabetzea. Aldaketa hauek iradokitzen dute estres-eredu honek emeetan antsietate sintomekin erlazionatutako aldaketa neurokimiko eta jokabidezkoak eragiten dituela, zeinak mantenduz gero, gutxiegitasun monoaminergiko orokor batetara eraman dezakeen eta ondorioz egoera depresibora (Ressler eta Nemeroff, 2000). Era berean, hipokanpoko DA eta DOPAC maila baxuek -nahiz eta DOPAC/DA ratioan ezberdintasunik ez egon- depresioan disfuntzio kognitiboarekin lotzen den gutxiegitasun dopaminergikoa iradokitzen dute (Bäckman, Nyberg, Lindenberger, Li eta Farde, 2006). Gainera, aurrera begira, interesgarria litzake beste garun egituretako aktibitate dopaminergikoa ere ikertzea, bereziki, estriatua eta cortex prefrontala, sagu estresatuetan aurkitutako anhedoniak gutxiegitasun

dopaminergikoa adieraz baitezake egitura horietan (Eisenberger et al., 2009; Rygula et al., 2005).

Hipokanpoko hantura egoera aztertzerakoan, animalia estresatuek IL-10 zitokina antiinflamatorioaren mRNA espresio txikiagoa dutela aurkitu dugu. Aitzitik, ez da ezberdintasunik aurkitu IL-6, TNF- α , eta IL-1 β zitokina proinflamatorioetan. Eraitza hori ez da esperotakoa, izan ere, ikerketa gehienek estres kroniko sozialak hipokanpoko zitokina proinflamatorioak areagotzea eragiten dutela adierazten dute (M. C. Audet, Mangano eta Anisman, 2010; Bartolomucci et al., 2003; Jacobson-Pick et al., 2013; Joana et al., 2016). Baina, kontuan izan behar da, batetik, aurreko eraitza horiek animalia arrei porrot soziala eraginda lortutakoak direla, eta bestetik, beste ikerketa batzuek estres erantzunean jazotzen diren zitokinen asaldurak sexuaren arabera ezberdinak izan daitezkeela. Esaterako, kortex prefrontaleko eta hipokanpoko IL-1 β espresioaren sensibilizazioa aurkitu zuten arretan bigarren estresore bat jasotakoan edo LPS bidezko erronka ostean, baina ez emeetan (Pyter, Kelly, Harrell eta Neigh, 2013). Hipokanpoko IL-10 espresioa gutxitzea eta horrekin batera zitokina proinflamatorioetan aurkitutako aldaketarik ezak estres soziala jasotako emeetan zitokina erantzun espezifiko iradokitzen du. Voorhees et al.-ek (2013) argitaratutako datuek ideia hori indartzen dute, murrizketa bidezko estres kronikoa jasotako emeetan hipokanpoko eta kortexeko IL-10 espresio gutxituarekin batera depresibo-motako jokabide

fenotipoa aurkitu baitzuten, markatzaile proinflamatorioetan aldaketarik atzeman ez zuten bitartean. Gainera, tesi honetako emaitzek antsietate eta depresio antzerako jokabideak zitokina proinflamatorioen efektuagatik ez ezik, zitokina antiinflamatorioen eragin independenteagatik ere gerta daitezkeela adierazten dute.

Bibliografiaren arabera, zitokina antiinflamatorioek rol garrantzitsua betetzen dute jokabidea modulatzeko (Bluthe et al., 1999; Kenis eta Maes, 2002; Kubera et al., 2001; Pan et al., 2013). IL-10 knockout (KO) saguetan egindako ikerketek erakusten dutenez, zenbait jokabide probetan agertutako jokabide depresibo areagotuak IL-10 injektatuta itzulgarriak dira (Mesquita et al., 2008; Roque et al., 2009). Gainera, IL-10 mailan gertatutako aldaketek eragin sakonagoa erakutsi dute emeetan arretan baino (Mesquita et al., 2008). Hala ere, IL-10ari lotutako aldaketa horien atzean diren mekanismoak argitzeke daude.

Zitokina proinflamatorioek jokabide depresiboan duten eragina ikusirik, autore askok IL-10aren eraginaren gakoak, zitokina proinflamatorioen ekoizpena inhibitzeko duen gaitasunean dela hipotetizatu dute (You et al., 2011), horrelaIDO-ren aktibazioa ekidingo bailuke (Dantzer et al., 2008).IDO entzima aktibitatearen ondorioz, 5-HT ekoizteko beharrezkoa den triptofanoa kinurenina ekoizteko erabiltzen da. Kinurenina 3-HK eta ondoren azido kinoliniko bihurtu daiteke. Azken produktu honi egotzi zaizkio bide kinurenikoaren aktibazioari lotutako jokabide aldaketak, bere exzitotoxizitatea medio. Lan honetan aurkitutako emaitzek sagu estresatuetan hipokanpoko 5-HT maila gutxitu

dela adierazten badute ere, zitokina proinflamatorioen eta IDO-ren espresioan ez da ezberdintasunik aurkitu, ezta TRYP, KYN eta 3-HK mailetan ere, IL-10ak jokabide aldaketak beste bide bat medio eragin ditzakeela iradokiz. Era berean, zitokina proinflamatorioetan areagotzerik ez egoteak DA mailan aurkitutako beherakada ez dela BH4 sintesi kofaktorearen eskuragarritasun faltagatik izan iradokitzen du.

Depresioan inplikaturako gainerako garun egituretan aldaketarik izan den ez badakigu ere, lortutako datuek adierazten dute gertatutako antsietate jokabidea eta depresio jokabide aldaketak neuroinflamazioaz apartekoak izan daitezkeela emeetan. Ildo horretatik, beste aurkikuntza batzuek adierazi dute LPS bidez eragindako seinalizazio neuroinflamatorioan dauden sexu ezberdintasunak ez diruditela jokabide afektiboan dauden ezberdintasunen arduradun (Pyter et al., 2013). Bestalde, IL-10ak in vitro exzitotoxizitatearen aurrean efektu neurotrofiko eta neurobabesle zuzena duela aurkitu da (Zhou et al., 2009) eta neuriten hazkuntza eta sinapsia sortzea sustatu dezake zenbait seinalizazio bide medio (Chen et al., 2016; Han et al., 2015; Sharma et al., 2011). Animalia eredutan hipokanpoko apoptosia areagotzea eta hipokanpoaren bolumena murriztea depresioarekin lotu izan dela ikusita (Lucassen et al., 2001), baliteke IL-10ak jokabide depresiboak ekiditea mekanismo horien bitartez. Are gehiago, IL-10ak M2 faktore mikrogliala normalizatu lezake estresaldian kaltetutako ehunak bere onera itzularaziz (Han et al., 2015).

Horretaz gain, kortikosterona mailan aurkitutako handitzea eta hipotalamoko GR espresioan aurkitutako gutxitzeak HPA ardatzaren hiperaktibitatea adierazi dute. Aldaketa horiek estresari lotutako nahasmenduekin erlazionatzen dira (Raison eta Miller, 2003), eta beste ikerlan batzuetako emaitzekin bat datoz (Herzog, Czéh, et al., 2009; Jarcho et al., 2016; Nowacka et al., 2014; Schmidt et al., 2010). HPA ardatzaren eta sistema immunitarioaren arteko elkarreraginean zitokinak bitartekari izan daitezke (Capuron eta Dantzer, 2003). Kasurako, IL-10ak HPA ardatzeko maila ezberdinetan kortikosterona ekoizpena erregulatu dezakeela ikusi da (Tu et al., 2005), eta hortaz, IL-10ean gertatutako aldaketek antsietate eta depresio antzerako jokabideen agerpena eragin dezake HPA ardatzaren modulazioaren bidez.

Laburtzeko, ikerketa honetan lortutako emaitzek adierazten dute lau asteko ESKE esposizioak hipokanpoko IL-10 espresioa gutxitu duela sagu emeean, baina, zitokina proinflamatorioetan eta kinureninaren bideko metabolitoetan aldaketarik eragin gabe. Estresak HPA ardatzaren hiperaktibitatea ere eragin du, baita aktibitate monoaminergikoko aldaketak eta antsietate eta depresio antzerako sintomak ere. Harreman kausal bat finkatu ezin bada ere, IL-10 gutxitzeak jokabide fenotipo horretan eragina izan dezake bere funtzio neurobabesleen bitartez, eta HPA ardatzean izan dezakeen eraginaren bidez. Lan honen mugetako bat antsietateari lotutako jokabide probarik ez erabili izana da, eremu irekia, plus maze edo interakzio sazialaren testa esaterako. Beste garun egitura

batzuk analizatzea ere interesgarria litzake, estriatua bereziki, anhedonia jokabidearekin duen lotura aintzat hartuta.

Lau asteko ESKE estresak antsietate eta depresio-motako sintomak eragin dituela ikusirik, bigarren fase esperimentalerako interesgarria da epe horretatik aurrera tratamendu antidepresibo bat probatzea.

IV. KAPITULUA

BIGARREN ESPERIMENTUA

4.1 METODOLOGIA

4.1.1 ANIMALIAK ETA ABELTEGIKO BALDINTZAK

Bigarren esperimentu honetarako, CD-1 zepa ez odolokideko sagu emeak (Janvier, Saint-Berthevin, Frantzia) erabili ziren. Aurreko fase esperimentalean bezala, zazpi asteko adinarekin iritsi ziren abeltegira eta astebeteko egokitze-aldia igaro zuten. Ingurumen, kaiolatze eta elikadura baldintzak ere lehen esperimentuko berberak izan ziren. Sagu bakoitzari bere identifikazio zenbakia esleitu eta buztan zuztarrean errotulagailu iraunkor batez margotu zitzaion esperimentua hasterako. Hori eta osterantzeko prozedurak saguentzat ikusezina den argi gorri pean egin ziren aldameneko gela batean.

Animalien gaineko prozedura guztiak helburu zientifikoekin erabilitako animaliak babesteko Europako Zuzentarauarekin bat gauzatu ziren (2010/63/UE), eta Euskal Herriko Unibertsitateko Animalien Ongizaterako Batzorde Etikoak (CEBA) eta Gipuzkoako Diputazioak onetsi eta kontrolatu zituzten.

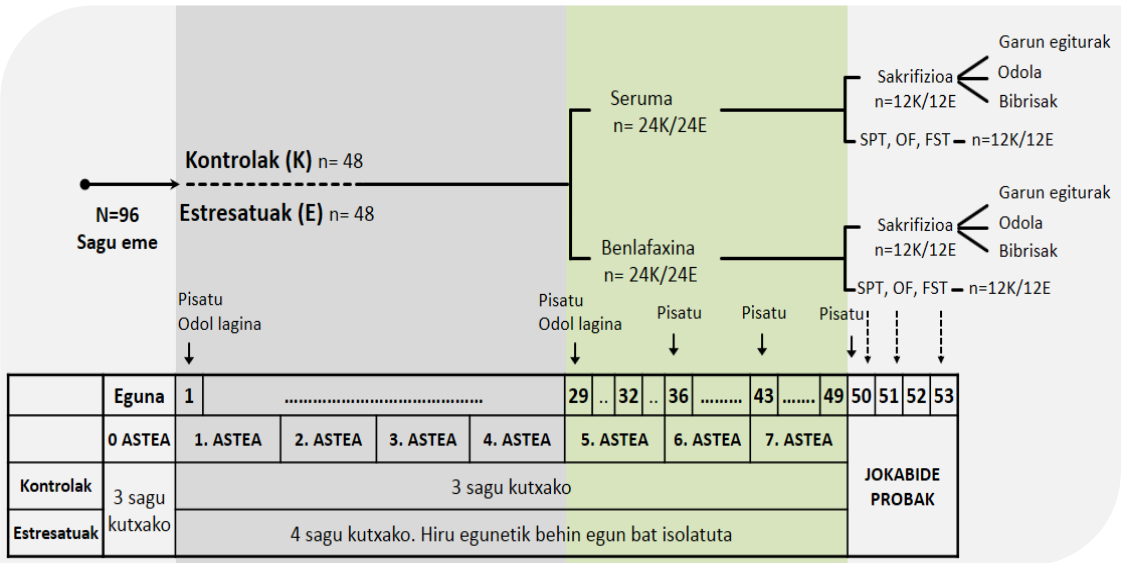
4.1.2 DISEINU ESPERIMENTALA

Laurogeita hamasei sagu eme erabili ziren bigarren esperimentu honetan. Egokitze aldiaren ostean, kontrol taldea (n=48) eta estres taldea (n=48) bereizi ziren. Estres taldekoei ESKE eredu 49 egunez aplikatu

zitzaien. Bitarte horretan, kontrol taldeko subjektuek egokitze aldiko baldintzetan jarraitu zuten, kaiola-kide berberekin. Hogeita bederatzigarren egunetik aurrera, kontrol eta estres taldeko saguen erdiari benlafaxina ematen hasi zitzaion, beste erdiari serum fisiologikoa. Tratamendu farmakologikoak 49. egunera arte iraun zuen, guztira 21 eguneko iraupena izanik. Aurreko esperimentuan egin bezala, 49 egun horietan hainbat parametro fisiologiko hartu zitzaizkien subjektu guztiei (N=96). Batetik, barailpeko zitzada bidez odol laginak jaso zitzaizkien 1. eta 29. egunetan plasmako kortikosterona mailak neurtzeko. Bestetik, saguen gorputz pisua 1. eta 50. egunetan erregistratu zen.

Berrogeita hamargarren egunean, hamabina subjektu sakrifikatu ziren dislokazio zerbikal bidez azpitalde bakoitzetik (kontrol-benlafaxina, kontrol-serum, estres-benlafaxina eta estres-serum taldeetatik), lagin biologikoak jasotzeko. Sakrifikatu eta berehala, bihotz-zitzada bidez odola jaso zen plasmako kortikosterona mailak zehazteko. Garuna erauzi zitzaien kortex prefrontala, hipotalamoa, hipokanpoa eta estriatua bakanduz, hurrengo ataletan zehaztuko diren determinazio biologikoak gauzatzeko. Sakrifizio ostean, *barbering* zeinuak ere aztertu ziren

Azpitalde bakoitzeko saguen beste erdiak (n=48) jokabide probak egin zituen; berrogeita hamargarren egunean, aurreko esperimentuko prozedura berdina erabiliz, SPT proba osatu eta subjektuen janari kontsumoa aztertu zen. Berrogeita hamaikagarren egunean OFT proba eta 53. egunean FST proba. Ondoren, dislokazio zerbikal bidez sakrifikatu ziren (8. irudia).



8. irudia. Bigarren esperimentuko diseinua.

4.1.3 ESTRES PROZEDURA

Aurreko fase esperimentalean erabilitako ESKE eredu bera erabili zen bigarren esperimentuan ere, baina oraingoan, estresa zazpi astez (49 egunez) aplikatu zen. Laburki, saguek egun bateko isolatze fasearen ostean hiru eguneko taldekatzea (lau sagu kaiolako) jasaten zuten modu errepikatu eta jarraian. Era horretan, sagu emeek ezin zuten sare sozial egonkor bat osatu. Taldekatze faseetan kaiola-kide bera birritan ez egokitzeko, aurreko esperimentuko konbinazio sistema bera erabili zen.

4.1.4 JOKABIDEAREN EBALUAZIOA

Depresio-motako jokabideen agerpena behatzeko aurreko kapituluko 3.1.4 puntuan azaldutako, SPT eta FST probak erabili ziren. Aurreko esperimentuan egin bezala, SPT proba gauzatzearekin batera jan kontsumoa ere neurtu zen. Horretaz gain, antsietate-motako jokabidea ebaluatzeko, OFT proba erabili zen hurrengo atalean zehaztutako moduan. Amaitzeko, bigarren esperimentu honetan ere *whisking* jokabide zeinuak behatu ziren aurreko ataleko 3.1.4 puntuan adierazitakoa jarraituz.

4.1.4.1 OFT proba

Eremu irekiko proba (Hall eta Ballachey, 1932), laborategiko karraskarietan jarduera lokomotoreari lotutako antsietate-motako jokabideak neurtzeko probarik erabilienetakoa da. Proposatu zenetik gaurdaino eraldaketa ugari jasan ditu, eta bigarren esperimentu honetan Zomkowski eta kideek (2010) deskribatu bezala gauzatu zen. Plexiglasez eginiko kaxa beltz batek (40 cm x 40 cm) osatu zuen eremu irekia. Proba hasteko, sagua kaxaren erdian uzten zen, eta sei minutuz kaxa nahieran arakutzen zuen. Jokabidea kamara finkoen bidez grabatu zen, ostera ANY-maze© softwarearen 4.96 bertsioarekin ebaluatzeko (Stoelting Europe, Dublin, Irlanda). Software horrekin, kaxa birtualki bi eremutan bereizi zen: periferian eta erdialdean. Saguak eremu bakoitzean pasatako denbora (s),

eremu bakoitzera egindako sarrera kopurua, ibilitako distantzia osoa (m) eta geldirik pasatako denbora (s) hartu ziren kontuan. Saio batetik bestera, kaxa %0,5eko azido azetiko disoluzioarekin garbitu zen, jarraian proba egin behar zuen saguak aurrekoaren hondakinen usaia har ez zezan.

4.1.5 ZEHAZTAPEN FISIOLGIKOAK

Odol lagina jaso eta plasmako kortikosterona kontzentrazioa zehazteko teknikak aurreko atalean azaldutakoak izan ziren (1.5.2 eta 1.5.3 puntuak).

4.1.5.1 Garun egiturak eraztea

Garunetik, cortex prefrontala, hipotalamoa, estriatua eta hipokanpoa bereizi eta -80°C -ra gorde ziren. Cortex prefrontalean izan ezik, gainontzeko garun egituretan hainbat interleukina eta hartzailearen mRNA espresioa neurtu zen RT-PCR teknikaren bidez, aurreko ataleko 3.1.5.6 puntuan azaldu bezala. Bigarren esperimentu honetan neurtutako erreferentziazko geneak eta xede geneak 3. taulan daude ikusgai. Bestetik, HPLC teknika erabiliz (ikus aurreko kapituluko 3.1.5.7 puntua) garun egitura guztietako aktibitate monoaminergikoa neurtu zen.

3. taula. PCR primerren zehaztasunak

Genea	Funtzioa	Primer sekuentzia (5'→3')	Aztertutako egitura	GenBank sarbide zk.
IL-1β	Zitokina proinflamatorioa	F: GATGATAACCTGCTGGTGTGTGA R: GTTGTTTCATCTCGGAGCCTGTAG	Hipokanpoa Estriatua	NM_008361.3
IL-6	Zitokina proinflamatorioa	F: AGCCAGAGTCCTTCAGAGA R: TCCTTAGCCACTCCTTCTGT	Hipokanpoa Estriatua	NM_031168.1
IL-10	Zitokina antiinflamatorioa	F: GCCAAGCCTTATCGGAAATG R: CCGCATCCTGAGGGTCTTC	Hipokanpoa Estriatua	NM_010548
TNF-α	Zitokina proinflamatorioa	F: GACGTGGAAGTGGCAGAAGAG R: TGCCACAAGCAGGAATGAGA	Hipokanpoa Estriatua	NM_013693.2
ERα	α estrogenu hartzailea	F: AAGGCGGCATACGGAAAGA R: CATTTCGGCCTTCCAAGTCA	Hipokanpoa Hipotalamoia	NM_007956
ERβ	β estrogenu hartzailea	F: CCAGACTGCAAGCCCAAATGT R: AGAAGCGATGATTGGCAGTGG	Hipokanpoa Hipotalamoia	NM_207707
GR	Hartzaile glukokortikoidea	F: CCCATGGAGGTAGCGATTGT R: TGTAAGGCTGCCAATGTGT	Hipokanpoa Hipotalamoia	X66367.1
MR	Hartzaile mineralokortikoidea	F: ACCTGCAGAGAGGACCAATGA R: GGAGTAATTCGTGTTTTCTTTGCT	Hipokanpoa Hipotalamoia	AJ311855.1

BIGARREN ESPERIMENTUA

Metodologia

GAPDH	Glizeraldehido-6- fosfato deshidrogenasa	F: CGGCCGCATCTTCTGTG R: GTGACCAGGCGCCAATAC	Hipokanpoa Hipotalamoa NM_008084.2 Estriatua
	HPRT	Hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa	F: TGGGAGGCCATCACATTGT R: TCCAGCAGGTCAGCAAAGAAC Hipokanpoa Hipotalamoa NM_013556.2 Estriatua

4.1.6 TRATAMENDU FARMAKOLOGIKOA

Serotonina eta noradrenalinaren birkaptazioaren inhibitzailea den farmako bat aukeratu zen 2. esperimenterako, benlafaxina hain zuzen ((RS)-1-[2-dimetilamino-1-(4-metoxifenil)-etil]ziklohexanola) (Sigma Aldrich, Madril, Espainia). Serum fisiologikoa (NaCl %0,9) erabili zen farmakoa disolbatzeko, baita plazebo modura ere. Eguneroko dosia peritoneo barnean xiringatu zen 1ml/gorputz-pisu kg-ko bolumenean, goizeko 9:00 eta 10:00ak artean. Administratutako dosia 20mg/kg-koa izan zen, literaturan oinarrituta (Venzala et al., 2012). Hiru astez eman zitzaien saguei tratamendua, estresaldiaren 29. egunetik hasi eta 49. egunera. Ez zen efektu toxikoen zeinurik antzeman farmakoa ematerakoan edota ondorenean.

4.1.7 ANALISI ESTADÍSTIKOAK

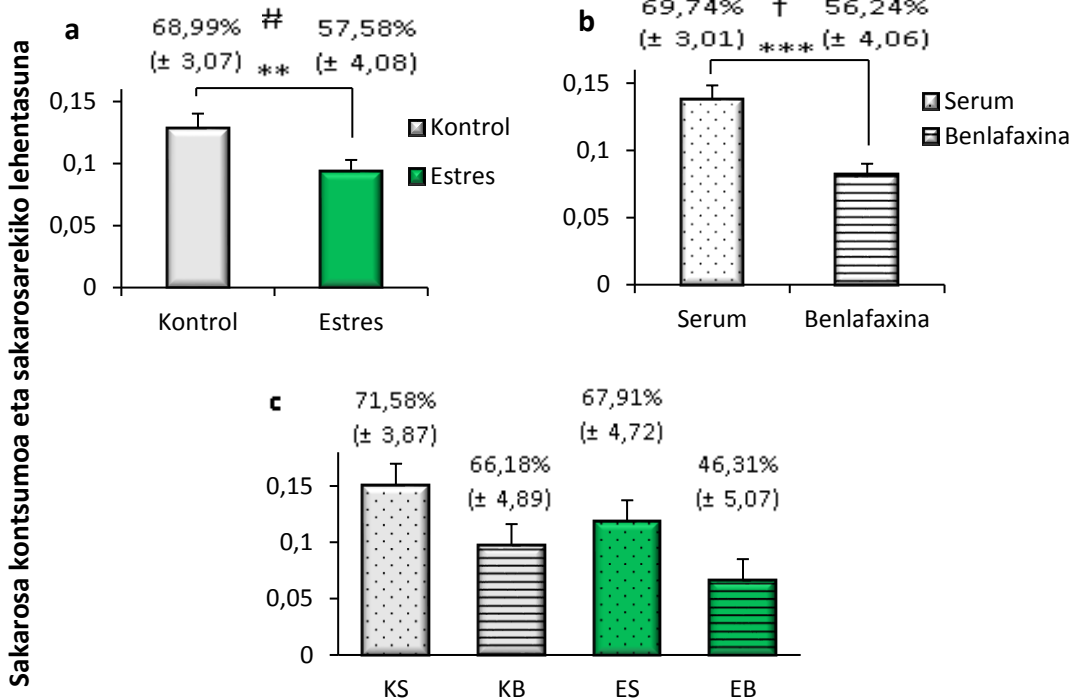
Analisi estadístico oro Windowserako SPSS 22 erabiliz osatu zen (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA), eta esangura-muga $p < 0.05$ -ean finkatu zen. Normaltasun eta homogeneotasun irizpideak errespetatu ziren eta *outlier*-ak *boxplot outlier labeling rule* jarraituta ezabatu ziren. Aldagai fisiologiko eta jokabidezkoetan estresa eta farmakoaren eragina aztertzeko faktore biko ANOVA erabili zen. Kortikosterona eta gorputz pisua aldagaien kasuan, neurketa errepikatuetarako faktore biko ANOVA baliatu zen. Analisisiek *estres* eta *farmako* faktoreen arteko elkarrekintza adierazi zutenean, *Post hoc* testa erabili zen azpitaldeen arteko ezberdintasunak finkatzeko, Bonferroniren irizpideari jarraiki. *Whisking* jokabidea Fisher-en test zehatza erabiliz aztertu zen.

4.2 EMAITZAK

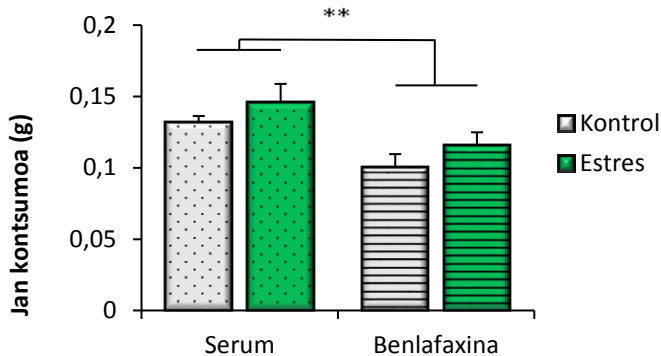
4.2.1 ZAZPI ASTEKO ESKE-REN ETA BENLAFAXINA TRATAMENDU KRONIKOAREN ERAGINA SAGU EMEEN JOKABIDEAN

4.2.1.1 SPT proba eta jan kontsumoa

Faktore biko analisiaren arabera, sagu estresatuek kontrolek baina gutxiago lehenetsi zuten sakarosa soluzioa ($F_{[1,45]}= 6.41$; $p=0.015$) (7a grafikoa) eta kontsumitu ere, gutxiago kontsumitu zuten ($F_{[1,45]}= 7.58$; $p=0.009$). Bestalde, benlafaxina emandako saguek seruma emandakoek baino lehenespen eta kontsumo txikiagoak azaldu zituzten ($F_{[1,45]}= 8.44$; $p=0.006$ eta $F_{[1,45]}= 19.54$; $p<0.001$) hurrenez hurren (7b grafikoa). Jan kontsumoan berriz, ez zen estresagatiko ezberdintasunik aurkitu, bai ordea farmakoagatikoa. Zehazki, benlafaxina jasotako taldeak janari gutxiago kontsumitu zuen ($F_{[1,45]}= 11.28$; $p=0.002$) (8. grafikoa). Ez zen elkarrekintza estatistikorik aurkitu farmakoa eta estresaren artean sakarosa lehenespen ala kontsumoari (7c grafikoa) zein jan kontsumoari zegokionean. Ur kontsumoaren inguruan ere ez zen ezberdintasunik aurkitu.



7. grafikoa. Sakarosa lehenespena. (a) Gorputz pisuarekiko sakarosa kontsumo erlatiboa (sakarosa g/ gorputz pisu g) kontrol taldean ($n=24$) eta estres taldean ($n=24$). (b) Gorputz pisuarekiko sakarosa kontsumo erlatiboa (sakarosa g/ gorputz pisu g) serum taldean ($n=24$) eta benlafaxina taldean ($n=24$). (c) Gorputz pisuarekiko sakarosa kontsumo erlatiboa (sakarosa g/ gorputz pisu g) kontrol-serum taldean ($n=12$), kontrol-benlafaxina taldean ($n=12$), estres-serum taldean ($n=12$) eta estres-benlafaxina taldean ($n=12$). Zutabeen gaineko zenbakiak sakarosarekiko lehenetasun portzentajea adierazten dute (sakarosa g/bolumen total g) $\times 100$. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). $**p<0.01$ eta $***p<0.001$. Lehenespen portzentajeen arteko ezberdintasunak: $\#p<0.05$; $\dagger p<0.01$.



8. grafikoa. Jan kontsumoa. Gorputz pisuarekiko jan kontsumo erlatiboa (janari g/ gorputz pisu g) serum taldean (n=24) eta benlafaxina taldean (n=24). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). ** $p < 0,01$.

4.2.1.2 OFT proba

Estresak ez zuen eraginik izan OFT proban saguek ibilitako distantzian edo geldirik pasatako denboran, ez eta eremuko irekiko erdialde edo kanpoaldean emandako denboran edota eremu batetik bestera egindako sarrera kopuruan ere. Era berean, benlafaxinak ez zuen eraginik izan aldagai horietan.

4.2.1.3 FST proba

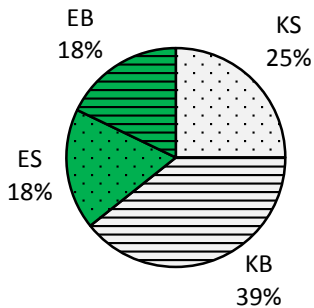
FST proban ez zen estresaren araberako aldaketarik aurkitu igeriketa, eskalatze eta gelditasun jokabideetan iragandako denboran,

eza jokabide horiek hasi arteko latentzian ere. Halaber, benlafaxinak ez zuen eraginik izan proba honetan.

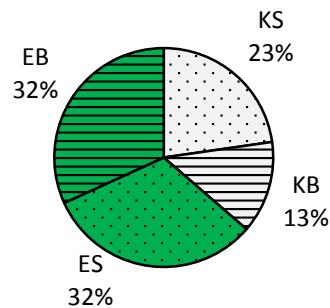
4.2.1.4 Whisking jokabidea

Fisherren test zehatzak erakutsi zuenez, estresak eragina izan zuen *whisking* jokabidearen adierazpenean. Talde estresatuan subjektuen %64ak zituen bibrisa motzak, kontroletan bibrisa motzen banaketa %36ra mugatu zen bitartean ($p=0,044$) (9. grafikoa). Benlafaxinak ez zuen aldagai honen distribuzioan efekturik izan.

a Bibrisa luzeak



b Bibrisa motzak

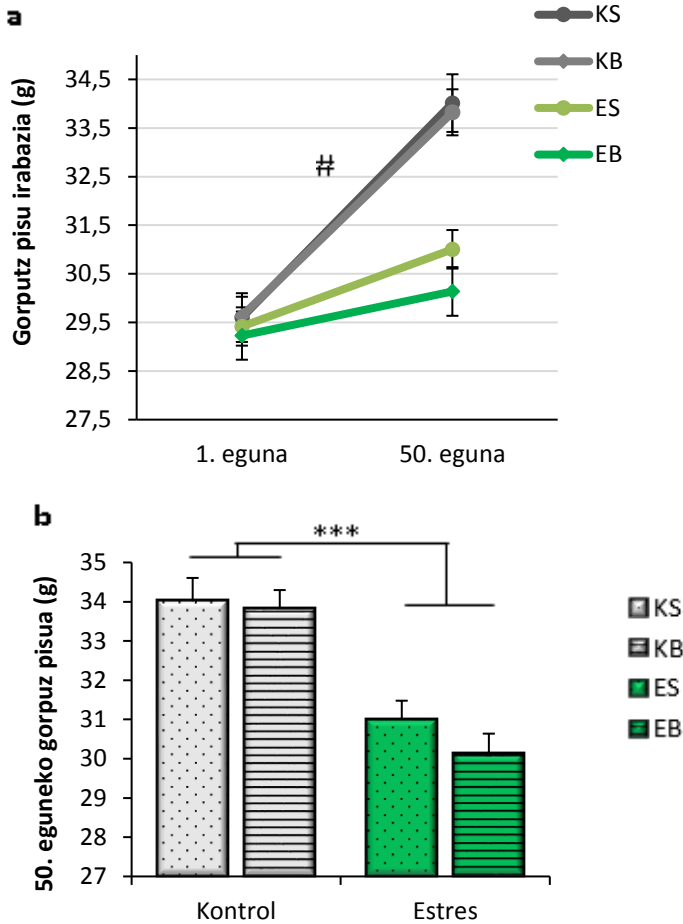


9. grafikoa. Whisking jokabidea. (a) Bibrisa luzeen banaketa eta (b) bibrisa motzen banaketa lagineko azpitaldeetan, kontrol-serum taldean ($n=12$), kontrol-benlafaxina taldean ($n=12$), estres-serum taldean ($n=12$) eta estres-benlafaxina taldean. Datuak ehuneko moduan espresatu dira.

4.2.2 ZAZPI ASTEKO ESKE-REN ETA BENLAFAXINA TRATAMENDU KRONIKOAREN ERAGINA SAGU EMEEN FISIOLOGIAN

4.2.2.1 Gorputz pisua

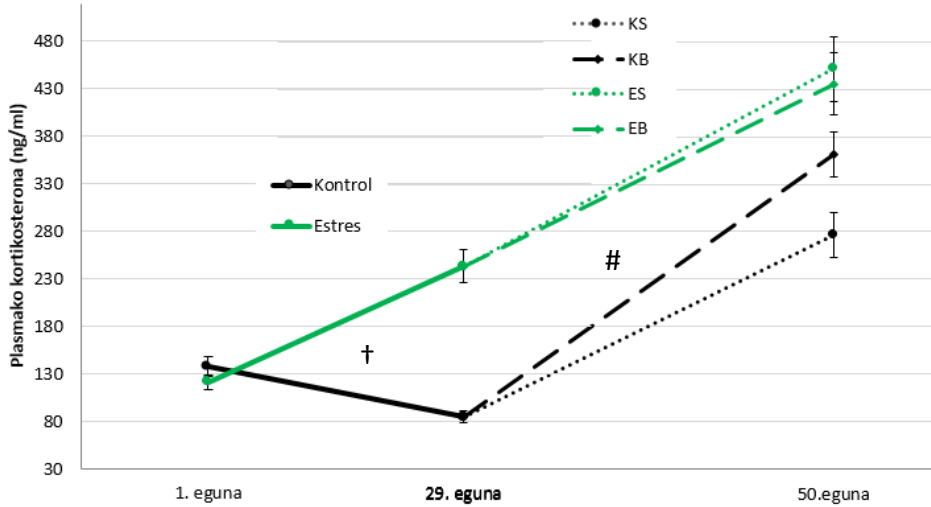
Faktore biko analisiaren arabera, sagu estresatuen 50. eguneko gorputz pisua txikiagoa da kontrolen aldean ($F_{[1,94]}= 45.5$; $p<0.001$) (10b grafikoa). Norabide berean, neurketa errepikatuen ANOVAk adierazi zuenez, *estres* eta *denbora* faktoreek elkarrekintza izan zuten gorputz pisu basaletik estresa amaitu zeneko gorputz pisura ($F_{[1,94]}= 43.05$; $p<0.001$) (10a grafikoa), estresak saguen pisu irabazia eskasagoa izatea eragin zuelarik ($F_{[1,94]}= 19.94$; $p<0.001$). Benlafaxinak ez zuen efektu edo elkarrekintzarik erakutsi lagin errepikatuen analisisan.



10. grafikoa. Gorputz pisua. (a) Subjektuen gorputz pisu irabazia esperimentuko lehen egunetik azken egunera (N=96). (b) Estresaldiko azken eguneko kontrol taldearen (n=48) eta estres taldearen (n=48) gorputz pisuaren arteko konparaketa. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). # $p < 0.001$, 1. Egunetik 50. Egunerako aldea estresaren arabera. *** $p < 0.001$.

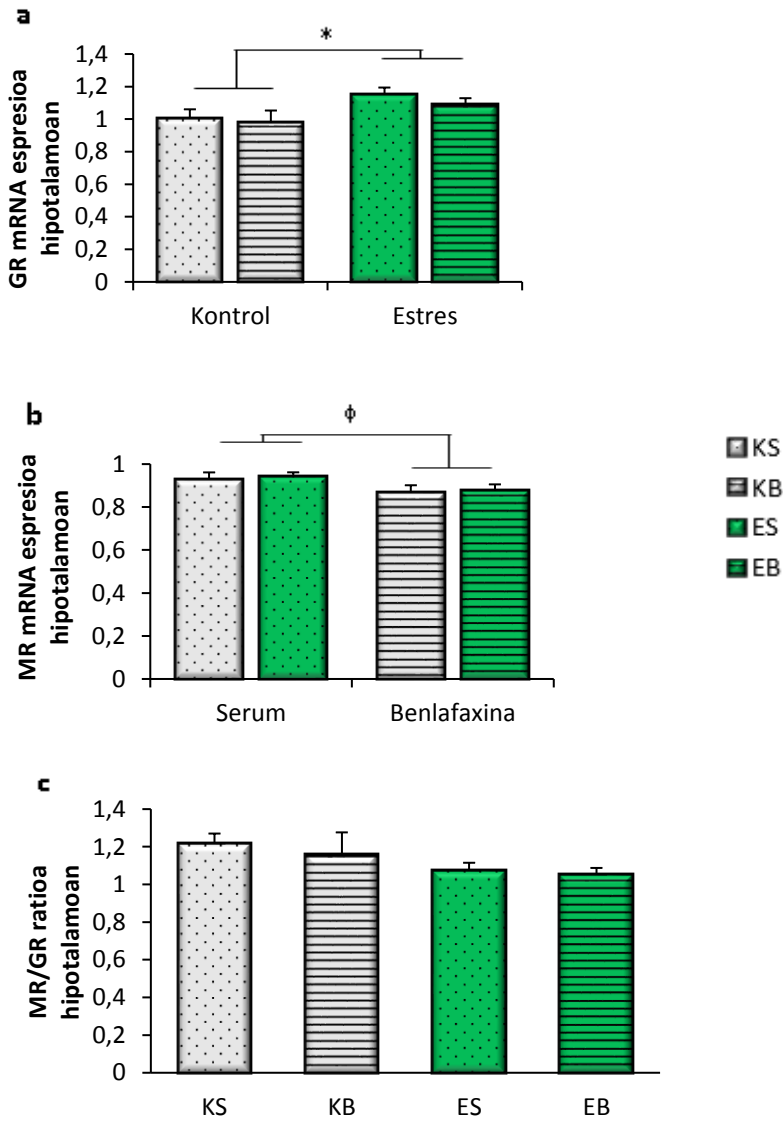
4.2.2.2 Plasmako kortikosterona maila eta hipotalamo eta hipokanpoko hartzaile glukokortikoideen mRNA espresioa

Plasmako kortikosterona mailari dagokionean, neurketa errepikatuen hiru faktoreko (*denbora, estresa eta farmakoa*) ANOVAk adierazi zuenez, *denbora* faktoreak ($F_{[1,43]}= 62.85$; $p<0.001$) eta *estres* faktoreak ($F_{[1,43]}= 10.85$; $p=0.002$) eragina izan zuten, eta bi faktoreek elkarrekintza erakutsi zuten gainera (*denbora * estresa*) ($F_{[1,43]}= 14.15$; $p<0.001$). *Denbora* faktoreari dagokionean, 29. egunetik 50. egunerako kortikosterona igoera adierazi zuen analisiak aztertutako talde guztietan ($F_{[1,44]}= 41.14$; $p<0.001$). *Estres* faktorearen kasuan, 29. eguneko kortikosterona maila handiagoa zen talde estresatuan ($F_{[1,46]}= 18.93$; $p<0.001$), eta beste horrenbeste 50. eguneko aldagai anitzeko analisiaren arabera ($F_{[1,45]}= 4.47$; $p=0.04$). Bi faktoreen arteko elkarrekintza aztertzerakoan ikusi zenez, zehazki, 1. egunetik 29. egunera igo zen talde estresatuaren kortikosterona maila kontrolena baino gehiago ($F_{[1,44]}= 9.87$; $p=0.003$). Benlafaxinak ez zuen inolako efektu edo elkarrekintzarik azaldu (11. grafikoa).



11. grafikoa. Kortikosterona. Plasmako kortikosterona kontzentrazioaren (ng/ml) bilakaera 1., 29. eta 50. egunetan ($n=48$). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). # $p<0.01$, 1. eta 29. egunen arteko bilakaera kontrol ($n=24$) eta estres taldea ($n=24$) konparatuta. † $p<0.001$, 29. eta 50. egunen arteko bilakaera kontrol ($n=24$) eta estres taldea ($n=24$) konparatuta.

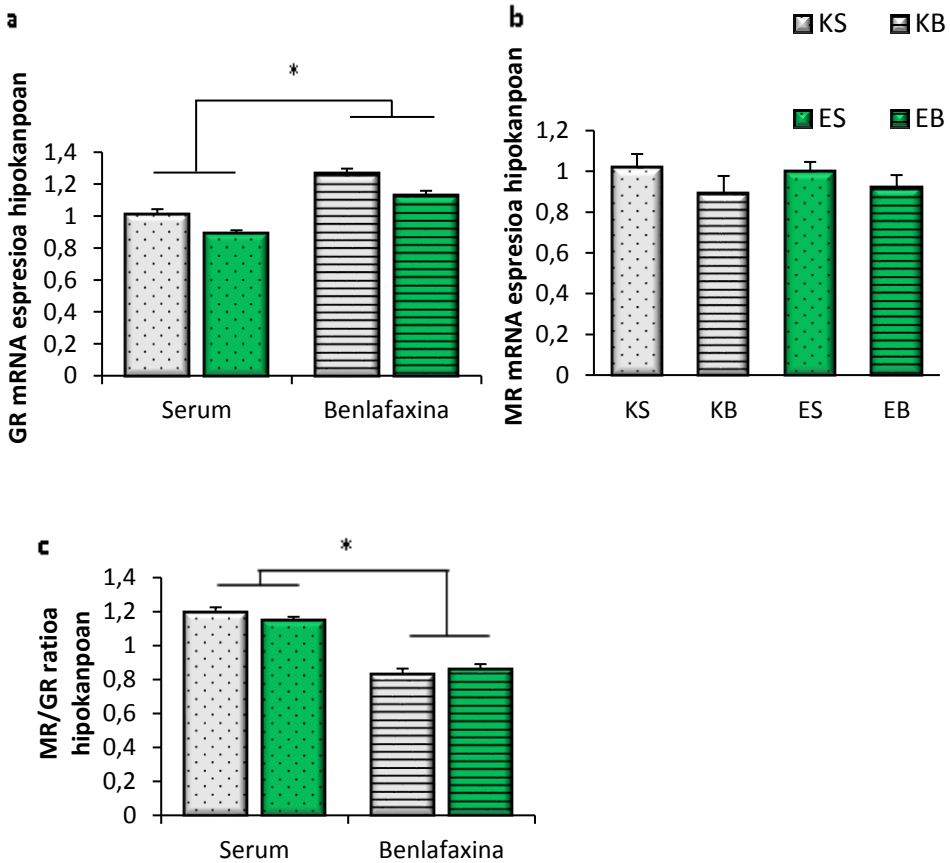
Hipotalamoko hartzaile glukokortikoideen mRNA espresio mailari dagokionez, faktore biko ANOVaren arabera, kontrol taldeak baino GR mRNA espresio maila handiagoa zuen estres taldeak ($F_{[1,46]}= 5,030$; $p=0.030$). Bestetik, benlafaxina emandako saguetan MR espresioak beharazko joera erakutsi zuen seruma emandakoen aldean ($F_{[1,45]}= 4.04$; $p=0.051$). Ez zen tratamendua eta estresaren arteko elkarrekintzarik topatu, ezta bi hartzaileen ratioaren gaineko ezberdintasunik ere.



12. grafikoa. Hartzaille glukokortikoideak hipotalamoan. (a) GR mRNA espresioa kontrol taldea ($n=24$) eta estres taldearentzat ($n=24$). (b) MR mRNA espresioa serum taldea ($n=24$) eta benlafaxina ($n=24$) taldearentzat. (c) MR/GR ratioa kontrol-serum taldean ($n=12$), kontrol-benlafaxina taldean ($n=12$), estres-serum taldean ($n=12$) eta estres-benlafaxina taldean ($n=12$). Datuak

batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE).
* $p < 0.05$ eta $\psi p < 0.07$.

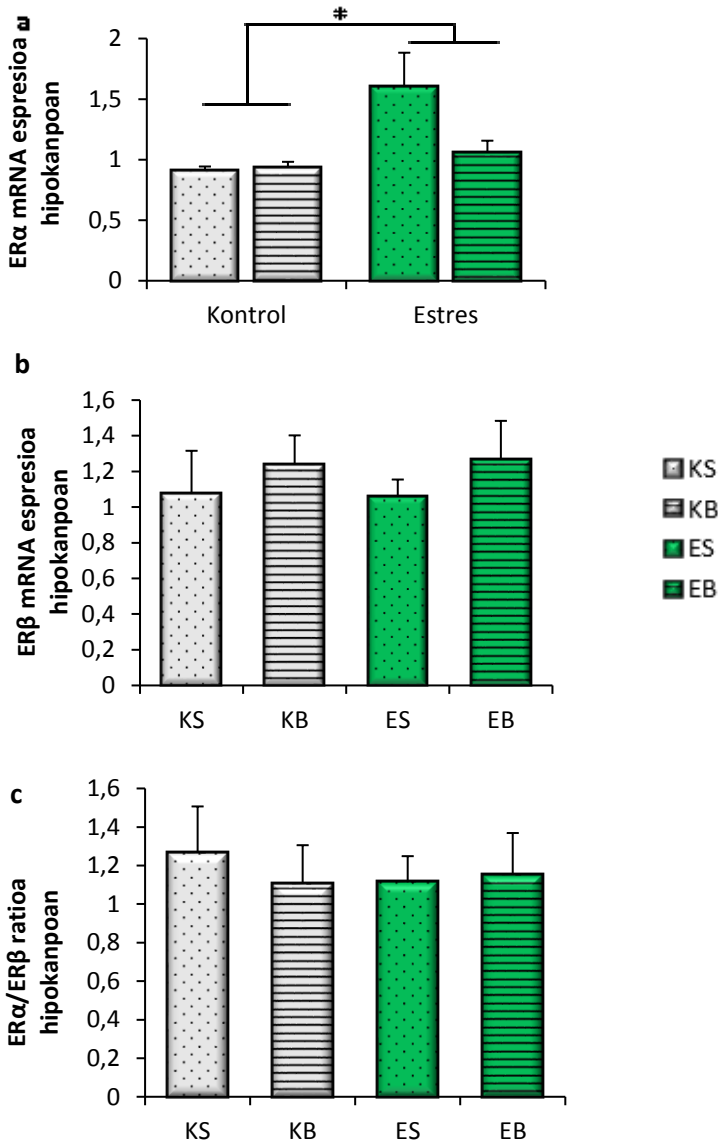
Hipokanpoan berriz, benlafaxina jasotako subjektuek, seruma jasotakoan aldean, GR mRNA espresio handiagoa zutela erakutsi zuen faktore biko analisiak ($F_{[1,46]} = 6.55$; $p = 0.014$) (13a grafikoa). Horrekin batera, MR/GR ratioa txikiagotu zuen benlafaxinak ($F_{[1,46]} = 6.289$; $p = 0.016$) (13c grafikoa). Estresak ez zuen eragin ez eta tratamendua eta estresaren arteko elkarrekintzarik topatu.



13. grafikoa. *Hartzaile glukokortikoideak hipokanpoan. (a) GR mRNA espresioa serum taldea (n=24) eta benlafaxina taldearentzat (n=24). (b) MR mRNA espresioa kontrol-serum taldean (n=12), kontrol-benlafaxina taldean (n=12), estres-serum taldean (n=12) eta estres-benlafaxina taldean (n=12). (c) MR/GR ratioa serum taldea (n=24) eta benlafaxina (n=24) taldearentzat. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). * $p < 0.05$*

4.2.2.3 Hipotalamo eta hipokanpoko ER α eta ER β mRNA espresio mailak

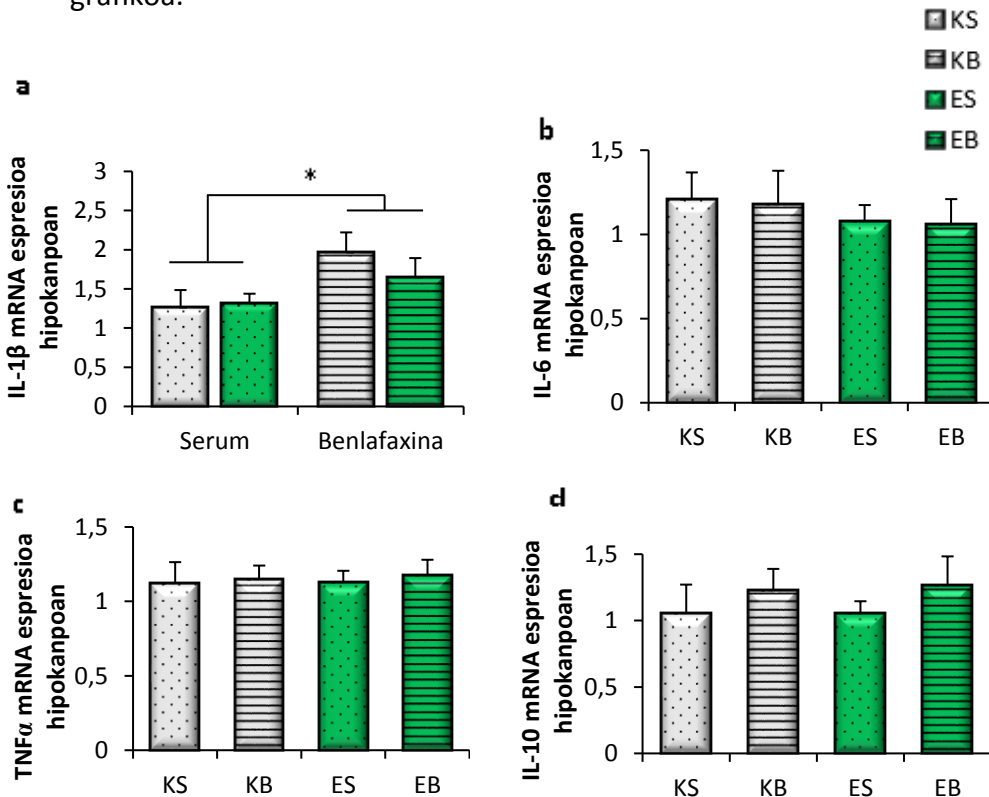
Hipotalamoko estrogeno hartzaileen mRNA espresioan ez zen estresa edo farmakoagatiko aldaketarik aurkitu, ezta bi faktoreen arteko elkarrekintzarik ere. Hipokanpoan berriz, talde estresatuak ER α espresio handiagoa erakutsi zuen kontrol taldearekin konparatuta ($F_{[1,46]} = 7,08$; $p = 0.011$) (14a grafikoa). Benlafaxinak ez zuen aldaketa edo elkarrekintzarik eragin, eta ez zen ER β mRNA espresioan edo ER α /ER β ratioan ezberdintasunik aurkitu (14b, c grafikoak).

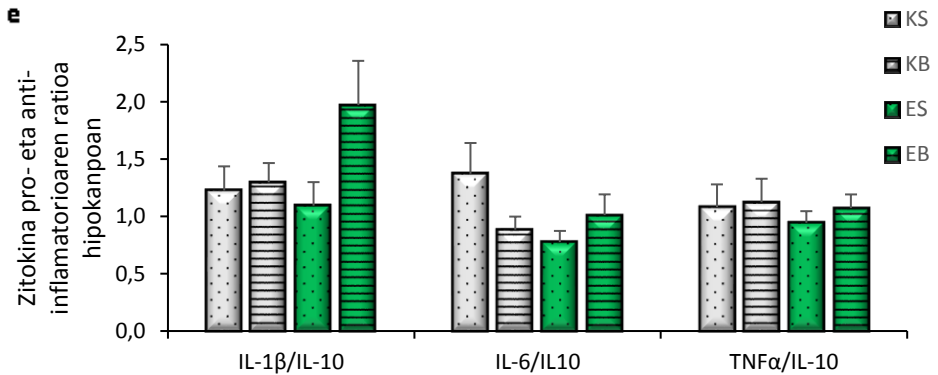


14. grafikoa. Estrogeno hartzaileak hipokanpoan. (a) ERα mRNA espresio maila kontrol taldean (n=24) eta estres taldean (n=24), (b) ERβ mRNA espresio maila eta (c) ERα/ ERβ ratioa kontrol-serum taldean (n=12), kontrol-benlafaxina taldean (n=12), estres-serum taldean (n=12) eta estres-benlafaxina taldean (n=12). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (±batezbestekoaren errore estandarra, BEE). *p<0.05.

4.2.2.4 Hipokanpo eta estriatuko zitokinen mRNA espresioa

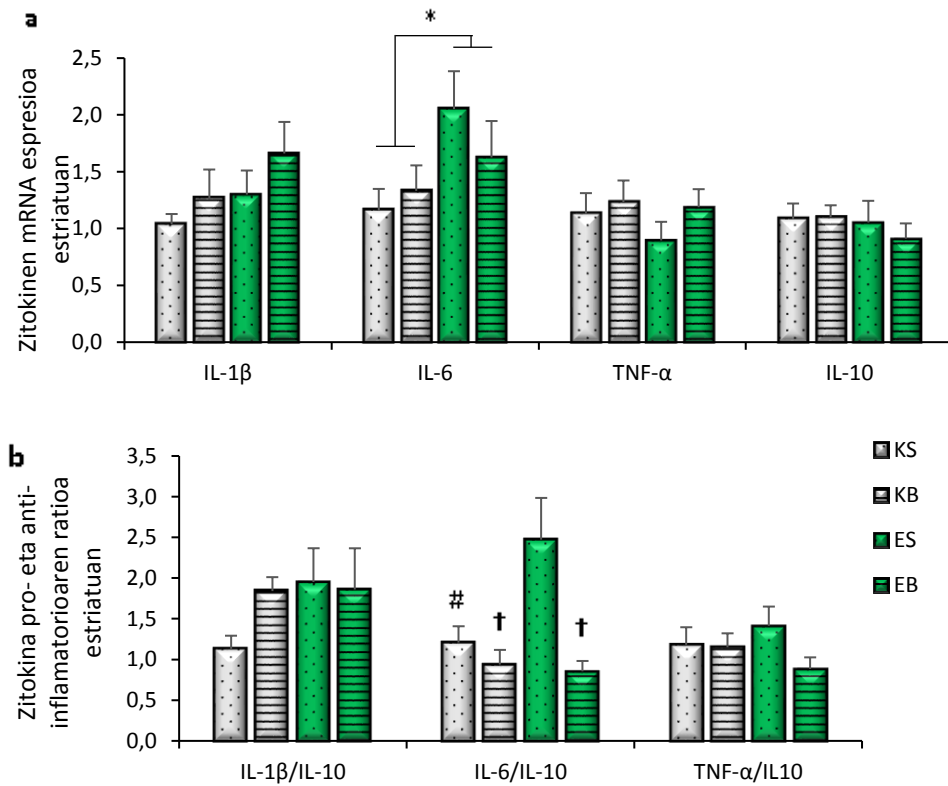
Hipokanpoan estresak ez zuen inolako eraginik izan zitokinetan faktore biko ANOVAREN arabera (15 b,c eta d). Benlafaxinak berriz, IL-1 β espresio mailak areagotzea eragin zuen ($F_{[1,46]}= 5.19$; $p=0.027$) (15a grafikoa). Ez zen bi faktoreen arteko elkarrekintzarik aurkitu, ez eta zitokina pro- eta antinflamatorioaren arteko ratio ezberdintasunik (15e grafikoa).





15. grafikoa. Hipokanpoko zitokinen mRNA espresio mailak. (a) IL-1β espresio maila serum taldean ($n=24$) eta benlafaxina taldean ($n=24$). (b) IL-6, (c) TNFα eta (d) IL-10ren espresio maila eta (e) zitokina pro-inflamatorio eta anti-inflamatorioaren arteko ratioak serum taldean ($n=12$), kontrol-benlafaxina taldean ($n=12$), estres-serum taldean ($n=12$) eta estres-benlafaxina taldean ($n=12$). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). * $p<0.05$.

Estriatuko zitokinei dagokienez, estresak IL-6 mRNA espresioa ($F_{[1,48]}= 4,64$; $p=0.037$) (16a grafikoa) eta IL-6/IL-10 ratioa ($F_{[1,48]}= 4,04$; $p=0.050$) areagotzea eragin zuela adierazi zuen faktore biko analisiak. Benlafaxinak berriz, IL-6/IL-10 ratioa ($F_{[1,48]}= 10,32$; $p=0.002$) gutxitu zuen. Azkenik, IL-6/IL-10 ratioan bi faktoreen arteko elkarrekintza ere gertatu zen ($F_{[1,48]}= 5,26$; $p=0.026$). Zehazki, ES taldeak ratio handiagoa erakutsi zuen KS taldearekiko ($p=0.029$), KB taldearekiko ($p=0.002$) eta EB taldearekiko ($p=0.003$) (16b grafikoa).

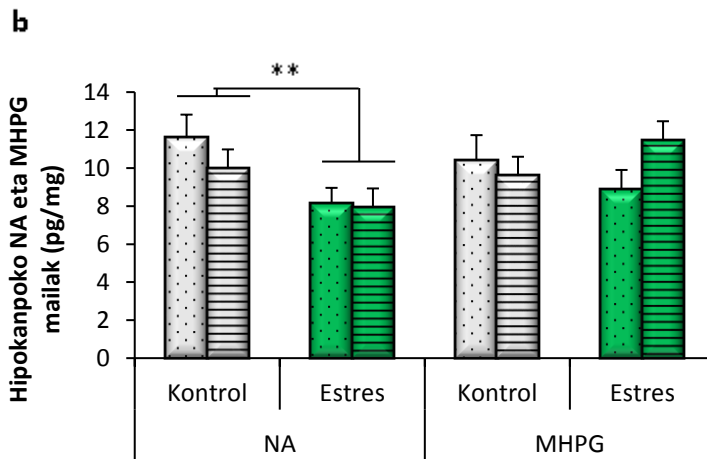
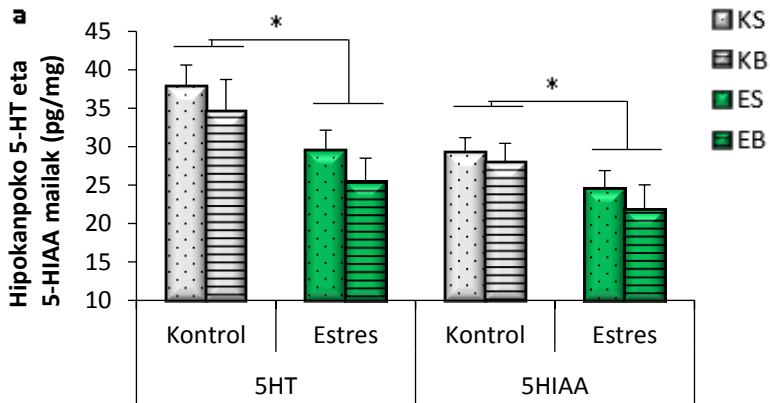


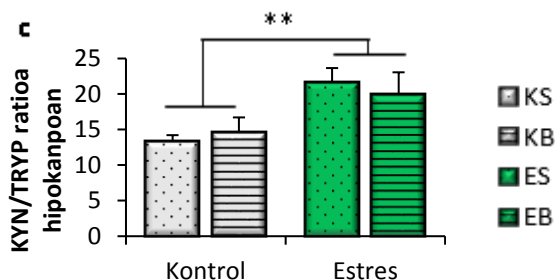
16. grafikoa. Estriatuko zitokinen mRNA espresio mailak. (a) IL-1 β , IL-6, TNF- α eta IL-10 mRNA espresio maila erlatiboak, eta (b) zitokina pro-inflamatorio eta anti-inflamatorioen arteko ratioak. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm batezbestekoaren errore estandarra, BEE). * $p < 0.05$. Estres-serum taldearekin alderatuta: # $p < 0.05$ eta † $p < 0.01$.

4.2.2.5 Hipokanpoko monoamina, metabolito eta amino azido mailak

Faktore biko analisiaren arabera, sagu estresatuek kontrolak baino 5-HT ($F_{[1,46]}=6.869$; $p=0.012$) eta 5-HIAA maila ($F_{[1,46]}=4.386$; $p=0.042$) baxuagoak zituzten hipokanpoan (17a grafikoa). Beste horrenbeste NA

mailaren kasuan ere ($F_{[1,46]}=11.097$; $p=0.002$) (17b grafikoa). KYN/TRYP ratioari dagokionean, talde estresatuak ratio altuagoa erakutsi zuen kontrol taldearen aldean ($F_{[1,46]}=7.621$; $p=0.008$) (17c grafikoa). Hipokanpoan HPLC bidez neurtutako gainerako aldagaietan ez zen aldaketarik aurkitu. Ez zen bi faktoreen arteko elkarrekintzarik ikusi.





17. grafikoa. Hipokanpoko aktibitate serotonergiko eta noradrenergikoa. Monoamina eta metabolito mailak (ehun heze pg/mg) eta TRYP/KYN ratioa kontrol taldean ($n=24$) eta estres taldean ($n=24$): (a) 5-HT eta 5-HIAA mailak, (b) NA eta MHPG mailak, (c) TRYP/KYN ratioa. Datuak batezbesteko moduan adierazi dira ($\pm BEE$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ eta *** $p < 0.01$.

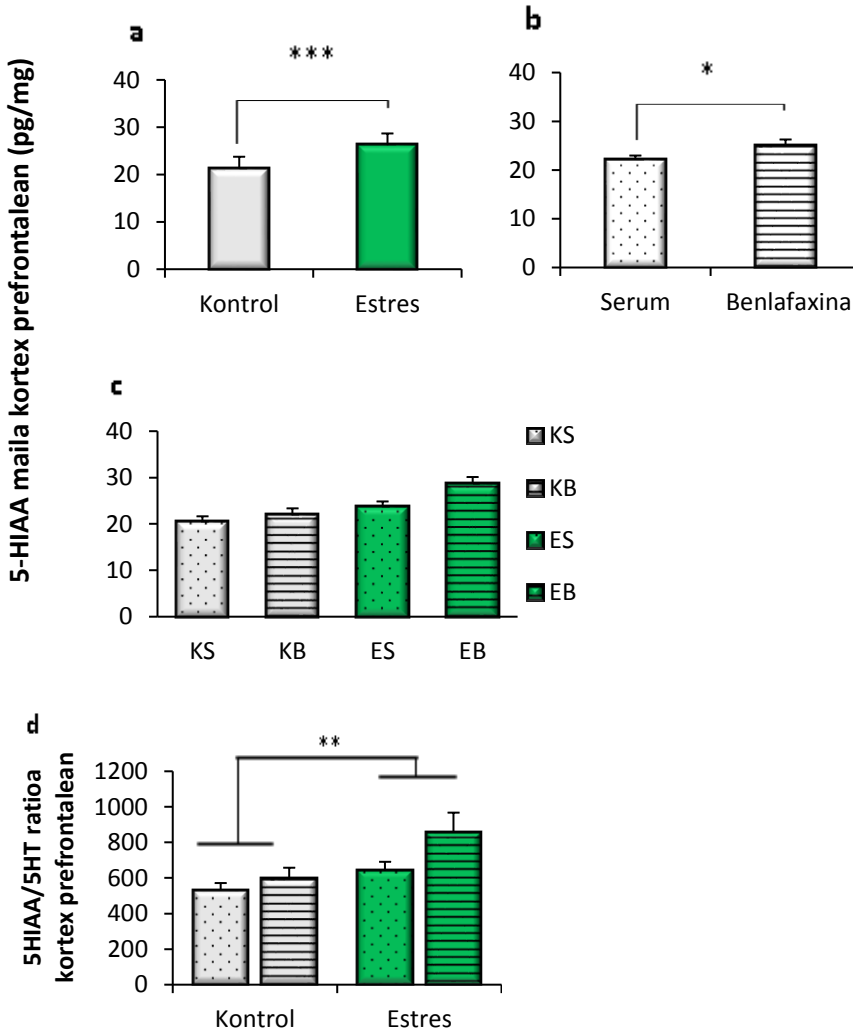
4.2.2.6 Estriatuko monoamina, metabolito eta amino azido mailak

Aldagai anitzeko analisiak ez zuen estresaren edo farmakoaren eraginik aurkitu estriatuko monoamina, metabolito edo amino azidoetan, ezta haien arteko ratioetan ere.

4.2.2.7 Kortex prefrontaleko monoamina, metabolito eta amino azido mailak

Aldagai anitzeko analisiaren arabera, estresak kortex prefrontaleko 5-HIAA maila handiarazi zuen ($F_{[1,46]}=14.881$; $p < 0.001$) (18a grafikoa), eta era berean, 5-HIAA/5-HT ratioa ere areagotu zuen ($F_{[1,46]}=8.367$; $p=0.006$). Bestetik, farmakoak bere aldetik ere 5-HIAA maila areagotzea

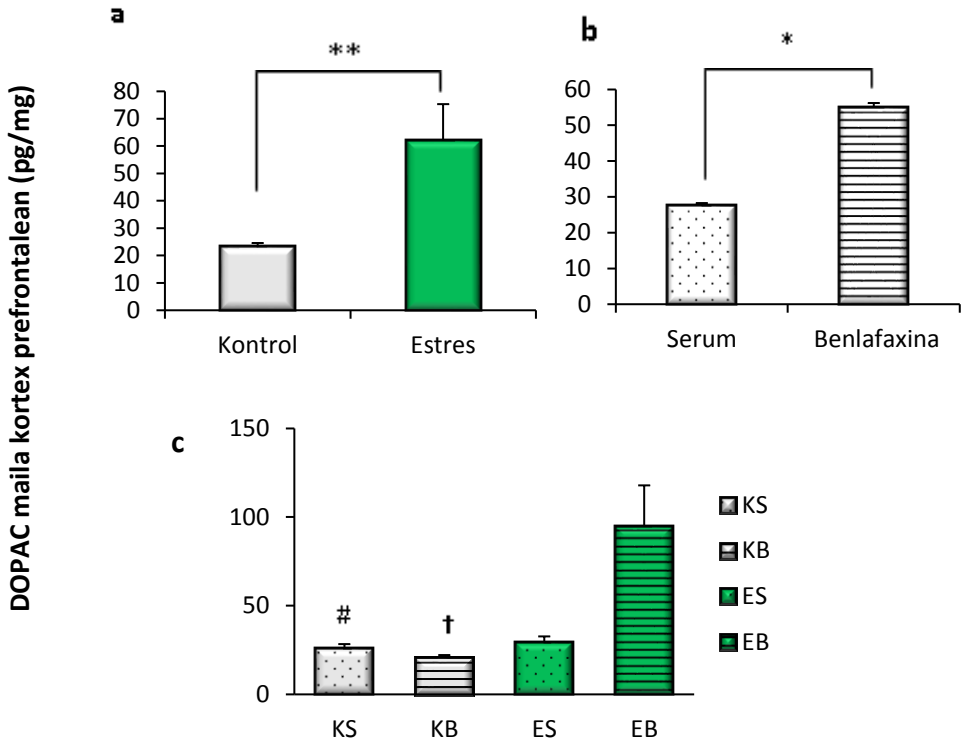
eragin zuen ($F_{[3,46]}=6.18$; $p=0.017$) (18b grafikoa), baina ez zen bi faktoreen arteko elkarrekintzarik eman (18c grafikoa).



18. grafikoa. Kortex prefrontaleko 5-HIAA maila (ehun heze pg/mg) eta 5-HIAA/5-HT ratioa. (a) 5-HIAA maila, kontrol taldean ($n=24$) eta estres taldean ($n=24$). (b) 5-HIAA maila serum taldean ($n=24$) eta benlafaxina taldean ($n=24$). (c) 5-HIAA maila kontrol-serum taldean ($n=12$), kontrol-benlafaxina taldean

*(n=12), estres-serum taldean (n=12) eta estres-benlafaxina taldean (n=12). (d) 5-HIAA/5-HT ratioa kontrol taldean (n=24) eta estres taldean (n=24). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira (\pm BEE). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ eta *** $p < 0.001$.*

Bestetik, kortex prefrontalean estres taldeak DOPAC maila handiagoa erakutsi zuen kontrolekin konparatuta ($F_{[1,46]}=9.079$; $p=0.004$) (19a grafikoa), eta estres eta farmakoa faktoreen arteko elkarrekintza egon zen ($F_{[1,46]}=4.842$; $p=0.033$) (19b grafikoa). *Post hoc* analisiaren arabera, estr es-benlafaxina taldeak bi azpitalde kontrolek baino DOPAC maila handiagoa zuen ($p=0.048$ KS taldearekiko eta $p=0.003$ KB taldearekiko) (19c grafikoa). Neurtutako gainerako aldagaietan ez da aldaketarik aurkitu.



19. grafikoa. Kortex prefrontaleko DOPAC maila (ehun heze pg/mg) (a) kontrol taldean ($n=24$) eta estres taldean ($n=24$); (b) serum taldean ($n=24$) eta benlafaxina taldean ($n=24$); eta (c) kontrol-serum taldean ($n=12$), kontrol-benlafaxina taldean ($n=12$), estres-serum taldean ($n=12$) eta estres-benlafaxina taldean ($n=12$). Datuak batezbesteko moduan adierazi dira ($\pm BEE$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Estres-benlafaxina taldearekin alderatuta: # $p < 0.05$ eta † $p < 0.01$.

4.3 EZTABAIDA

Bigarren esperimentuan jasotako emaitzek adierazten dutenez, ESKE ereduaz zazpi astez aplikatzeak ere, oro har, depresio-motako zeinu fisiologiko eta jokabide aldaketak eragin ditu sagu eme estresatueta. Bestalde, benlafaxina tratamenduak ez du jokabide aldaketak arintzerik lortu, baina hantura prozesua eta HPA ardatza barne-hartzen dituzten zenbait aldagai fisiologikori eragin die.

Hasteko, SPT proban bildutako datuek depresio-motako jokabidea iradokitzen dute, estresatutako saguek sakarosa kontsumo eta lehenespen txikiagoak agertu baitituzte kontrolen aldean. Lehen esperimentuan topatutako anhedonia jokabideak jarraipena izan du beraz. Aurrez esan bezala, anhedonia depresioaren sintoma nagusitzat hartzen da, eta depresio-motako endofenotipoarekin lotzen da. FST proban berriz, saguek gelditasunean iragandako denboran ez da 7 asteko ESKE-ren mendeko alderik aurkitu, estres prozedura eta iraupen berberak erabilitako beste lan batekin ados (Saavedra-Rodríguez eta Feig, 2013), eta 4 asteko ESKE erabilia Herzog et al.-ek (2009) eta gure aurreko esperimentuak adierazitakoarekin bat. Osotasunean, lan horiek iradokitzen dute iraupen ezberdina erabilia ere, ESKE ereduak ez duela karraskari emeen FST probako gelditasunean aldaketarik eragiten.

Bestalde, aurreko esperimentuan estresak FST proban eragindako antsietate-motako aldaketak ez du segidarik izan estresa 7 astera luzatzean, igeriketa proban aurrez jazotako eskalada jokabide areagotua desagertu egin baita. Gainera, OFT proban aztertutako aldagaiek ez dute

estresaren araberako ezberdintasunik adierazi. Era berean, Schmidt et al. (2010) eta Jarcho et al.-ek (2016), hurrenez hurren zazpi eta hamar asteko ESKE ereduak aplikatu ondoren ez zuten kontrolekiko alderik aurkitu sagu emeek eremu irekiko erdialdean edo kanpoaldean emandako denboran. Aldiz, Saavedra-Rodríguez eta Feig-ek (2013), zazpi asteko ESKE jasandako saguetan lokomozio-jarduera areagotua aurkitu zuten OFT proban, eta antsietate-motako sintoma moduan interpretatu zuten. Halabaina, azken lan horri heltzerakoan kontuan izan behar da estresaldia hasterakoan saguek, lau asteko adina zutela eta beraz pubertaro betean zirela, estresarekiko sasoi bereziki kalteberan (Holder eta Blaustein, 2014; McCormick eta Green, 2013). Gurean aldiz, saguak helduaro goiztiarrean zirela hasi zen esperimentua. Bestetik, *whisking* jokabide areagotua erakutsi du talde estresatuak, aurreko esperimentuan gertatu bezalaxe. Eraitza horren ildotik, aintzat hartu behar da, estres sozial kronikoaren zioz antsietate-motako jokabideak agertzeko prozesuak berekin dakarren konplexutasuna. Saguek berezko dute hierarkia soziala finkatzeko prozesuan elkarri bibrisak moztuz jokatzea, baina lehen fase esperimentaleko eztabaidan azaldu dugun gisan, antsietate-motako zeinu modura ere interpretatu izan da (Haridas, Ganapathi, Kumar eta Manda, 2018; Kalueff et al., 2006). Beraz, saguen lokomozioan antsietate-motako aldaketarik azaleratu ez badu ere, taldea egonkortzea eragozten duen estres-eredu honek sare soziala finkatzeko domeinuan antsietate-motako jokabide eragin ditzakeela iradokitzen du *whisking* areagotuak. Kontuan izan behar da jokabide paradigma ezberdinek jokabide emozionalen

domeinu ezberdinak neurtzen dituztela, eta probek animalia-egoera emozionala atzemateko duten gaitasuna subjektuaren sexu eta arrazaren, eta erabilitako testak jokabidea hautemateko duen doitasunaren arabera izan daitekeela (Schmidt et al., 2010). Beraz, nahiz eta goian OFT-ren inguruan aipatutako datuek ESKE-k proba horretan antsietate-motako jokabiderik eragiten ez dutela iradokitzen duten, interpretazioa tentuz egin behar da. Beste aukera bat litzake, tradizionalki sagu arrekin erabilitako proba hau emeetan aldaketak antzemateko egokia ez izatea. Izan ere, sagu emeen oinarrizko lokomozio jarduera arrena baino handiagoa da, eta sexuaren arabera berezko jokabide ezberdintasunek eta erabilitako prozedura metodologikoen zehaztasun ezak emaitzen interpretazioa kolokan jar dezakete (Simpson eta Kelly, 2012). Hots, baliteke emeetan interpretazio zehatza lortzeko OFT proba eremu handiagoan edota denbora luzeagoan egin behar izatea. Baina, nahasmendu psikiatrikoak eta tratamenduak ebaluatzeari dagokionean, oraingoz ez da irizpideak sexuaren arabera doitzeko animalia-proba berriak garatzeko edota tradizionalak egokitzeko saiakerarik egin (Kokras eta Dalla, 2014). Ildo beretik, saguak ezegonkortasun sozial kronikoa jasotzen ari direnean euren arteko interakzio soziala ebaluatzea lagungarri gerta liteke estresaren efektuaren nondik norakoa argitzeko. Halabaina, sagu emeek sare sozialak eratzeko eta elkarrekintza sozialerako erabiltzen dituzten jokabideen inguruan egindako behaketak urriak dira, arren elkarrekintza sozialaren gaineko xehetasunak etogrametan sailkatu diren bitartean (Brain, 1972).

Benlafaxinari dagokionez, estresak aldaketarik eragin ez duen parametroetan farmakoak ere ez du efekturik izan, hots, FST eta OFT probetan neurtutako jokabide aldagaietan. Aitzitik, estresak eragina izandako jokabide aldagaietan, SPTn eta *whisking* jokabidean alegia, farmakoak ez du efektu lehengoratzailerik izan, esperotakoaren aurka. Gainera, SPT proban farmakoak sakarosa kontsumoa, lehenespena eta jan kontsumoa murriztu ditu. Norabide berean, benlafaxinak eta serotonina eta noradrenalinaren birkaptazioaren beste inhibitzaile batzuek arratoi arren jan kontsumoa murriztu zutela aurkitu zen (Jackson, Needham, Hutchins, Mazurkiewicz eta Heal, 1997). Honen harira, azpimarratzekoa da benlafaxina hartzen duten pertsonen %11-k apetitu-galera pairatzen duela (Thomson, 2004). Bestetik, aipatu behar da jan kontsumoa murriztea eragin dezaketen albo-ondorioak izan ditzakeela benlafaxinak, goragalea esaterako (Bet, Hugtenburg, Penninx eta Hoogendijk, 2013). Hala ere, zaila da benlafaxinak SPT proban duen eragina finkatzea, subjektuak, dosiak, administrazio bideak eta emaitzak ezberdinak baitira lan batetik bestera (Mendez-David et al., 2017; Xing et al., 2013). *Whisking* jokabideari dagokionez, farmakoak eraginik izan ez duela ikusirik, baliteke benlafaxinaren ekintza mekanismoa berau murrizteko aproposena ez izatea, *whisking* jokabidearen atzean dauden oinarri biologikoak ezezagunak baitira oraino.

Gorputz pisuari dagokionean, lau asteko estresak eraginik izan ez bazuen ere, 7 asteko ESKE-k estresatuen pisu irabazia kontrolena baino txikiagoa izatea eragin du, eta ezberdintasun hori 50. egunean taldeen arteko gorputz pisua alderatzean ere islatu da. Emaitza horiek bat datoz emeetan ezegonkortasun soziala aplikatutako beste zenbait lanekin (Baranyi et al., 2005; Dadomo et al., 2017), baina ez guztiekin (Jarcho et al., 2016; Schmidt et al., 2010). Nahasmendu afektiboak ikertzeko luze erabilitako porrot sozialaren estresak ere emaitza ezberdinak jaso izan ditu gorputz aldagai honen inguruan, eta nolahi ere, gorputz pisuaren goranzko zein beheranzko bilakaerak estresa eraginkorra izan dela adierazten duela kontsideratzen da, bilakaera kontrol taldearekiko ezberdina bada behintzat (Kubota, Goto, Hagiya, Chohnan eta Toyoda, 2016; Takahashi et al., 2017). Hala ere, benlafaxinak ez zuen inolako eraginik izan saguen pisu irabazian, porrot-sozial bidezko estres kronikoa jasandako sagu arretan benlafaxina dosi berbera 30 egunez eman eta gero aurkitutakoarekin ados (Venzala, García-García, Elizalde, Delagrangue eta Tordera, 2012). Gure laginean ikusitakoaren arabera, farmakoak 50. egunean neurtutako jan kontsumoa txikiagoa izatea eragin zuen. Hala ere, tratamendu farmakologikoak ez zuen eraginik izan saguen gorputz pisuan.

Kortikosterona mailen bilakaerari erreparatuz, estres zein kontrol taldeetan igo da 29. egunetik 50.era, eta aldaketa hori karraskarietan adinean aurrera egin ahala nabarmentzen den kortikosterona igoera fisiologikoarekin bateragarria da (Barrientos et al., 2015; Garrido, de Blas, del Arco, Segovia eta Mora, 2012; Kolbe, Palme, Tichy eta Rüllicke, 2015).

Hala ere, lehen egunetik esperimentua amaitu arteko kortikosterona igoera handiago izan da talde estresatuan, eta gainera 29. eta 50. egunetako kortikosterona kontzentrazioak handiagoak izan ziren estresatuetan, lehen esperimentuan topatutako estres egoera mantendu denaren adierazgarri, eta beste autoreek aurkitutakoarekin bat (Schmidt et al., 2010).

Hipokanpoko hartzaille glukokortikoideei dagokienean, estresak ez du aldaketarik eragin. Hipotalamoan berriz, zazpi asteko estresak GR mRNA espresioa handitu du, lau asteko estresak jaitsi egin zuen bitartean. Gure bi esperimentuetan kortikosterona mailak areagotuta daudela ikusirik, GR espresioaren sekuentzia horrek estresaldiaren iraupenaren araberako dinamika ezberdina adieraz dezake HPA ardatzean. Lehenik, lau asteko estresaren ondoriozko kortikosterona maila handiei erantzunez, neurtutako GR espresioaren gutxitzeak hartzaille hauen beheranzko erregulazioa adierazi zuen. Egoera horrek, lehenengo esperimentuan adierazi dugun bezala, depresioan gertatu ohi den HPA ardatzaren hiperaktibitatea islatzen du (Raison eta Miller, 2003). Etengabeko estresa zazpi astra luzatutakoan aurkitutako GR espresioa areagotua HPA ardatzaren hiperaktibitatea doitzearen seinale izan daiteke. Zenbait lanek GR maila handituak kortikosterona kontzentrazioa jaitea eragiten duela adierazi baitute (Reichardt et al., 2000; Ridder, 2005; Zhang et al., 2009; Zimmer eta Spencer, 2014). Gure laginean, analisisien unean neurtutako GR espresio areagotuak ez du kortikosterona maila jaisterik lortu, estresaren

eraginez GR-en funtzioa desdoitu denaren seinale. Zehazki, estresarekiko erantzun neuroendokrinoa amaitzeko, beste gene batzuekin batera, CRH genearen transkripzioa inhibitu behar da, GR-en zitosoletik nukleorako translokazioa dela medio. Baina, HPA ardatzeko sexu ezberdintasun biologikoak izaki, estres kronikoak translokazioa galarazi dezake espresuki subjektu emeetan (Bourke et al., 2013). Hortaz, GR maila altuen aurrean kortikosteronak behera ez egitea gerta daiteke, CRH transkripzioak martxan jarraitzen duelako estresarekiko erantzun neuroendokrinoa etetea galaraziz (Bangasser, 2013). Datu hauen harira, interesgarria litzake aurrerantzean CRH mailak neurtzea subjektu emeak erabilitako estres-ereduetan.

Bestalde, benlafaxinak bere aldetik ez du inolako eraginik izan kortikosterona mailan. Emaitza kontrajarriak jaso dira aldagai honen inguruan; batetik, 24 egunez 10 mg/kg-ko benlafaxina dosiak ez zuen kortikosteronarengan eraginik izan estresatutako arratoi arretan (Connor et al., 2000). Xing et al.-ek (2013) ordea, 21 egunez dosi berbera emanda, benlafaxinak estres kronikoa nozitutako arratoi ar eta emeen kortikosterona maila altuak jaistea lortu zuen, baina efektua sexuaren arabera ezberdindu zen, emeetan eraginkortasun txikiagoa izanik. Azpimarratzekoa da bi lan horietan, gure lanean ez bezala, estresa aplikatu aurretik hasi zela benlafaxinaren administrazioa, eta ez depresio antzerako egoera sortu eta gero. Metodologia ezberdintasun hori ikerketa batetik bestera jasotako emaitzen desadostasunaren erantzule izan daiteke. Zalantzarik gabe, beste hainbat aldagaiek ere izan dezakete

eragina benlafaxinak kortikosterona maila lehengoratzeko duen gaitasunean, hala nola, estres prozeduraren ezaugarriek, farmakoaren dosiak eta administrazio bideak. Hipokanpoko hartzaile glukokortikoideei dagokienean berriz, benlafaxinak GR espresioa igo du, goranzko erregulazio hori farmakoek ekintza antidepresiboa lortzeko mekanismoen artean proposatuetako bat delarik (Pariante, 2004, 2006; Yau et al., 2007), eta aldaketa monoaminergikoez aparteko mekanismoen bidez gerta daitekeena (Lai et al., 2003; Okugawa et al., 1999). Bestetik, hipotalamoan, benlafaxinak ez zuen aldaketa esanguratsurik eragin. Zentzu horretan, aintzat hartu behar da hartzaile glukokortikoideen distribuzioa eta farmakoaren banatzea egituraren araberakoa denez, estresaren eta farmakoaren eragina ezberdina izan daitekeela egitura batetik bestera (Eskelund et al., 2017; ter Heegde, De Rijk eta Vinkers, 2015).

Aurreko esperimentuan bezalaxe, hipokanpoko zitokina proinflamatorioen mRNA espresioak ez du estresagatiko aldakuntzarik erakutsi. Zitokina antiinflamatorioari dagokionean berriz, lau asteko ESKE-rekin murriztutako IL-10 espresioa kontrolen espresioaren pareko azaldu da estresaldi luzeagoa igarotakoan. Bestalde, estresak estriatu egituran soilik, IL-6 zitokina proinflamatorioaren espresio maila handitu du, baita IL-6/IL-10 ratioa ere. Estres kronikoak piztu dezakeen hantura erreakzioa egitura batera edo batzuetara mugatu daitekeela ezagun da (Audet,

Jacobson-Pick, Wann eta Anisman, 2011). Bestalde, jokabide depresiboen azpian dauden zitokina bidezko mekanismoetan dimorfismo sexualak behatu dira, zitokina pro- nahiz anti-inflamatorioak sexuaren arabera fenotipo zehatzekin lot daitezkeelarik. Horrela bada, IL-6ak depresioarekin duen lotura eme zein arretan aurkitu bada ere (Hodes et al., 2016), baliteke korrelazioa emeetan sendoagoa izatea. Izan ere, gizakietan egindako lan batean, LPS jaso ondorengo aldarte deprimituaren eta odoleko IL-6ren arteko harreman esanguratsua aurkitu zuten emakumezkoetan baina ez gizonezkoetan (Eisenberger, Inagaki, Rameson, Mashal eta Irwin, 2009). Emeek zitokinekiko duten sentzibilitatea handiagoa da jokabidearen aspektu askotan, aktibitate sexualesan eta sakarosarekiko sari-erantzunean esaterako (Avitsur, Cohen eta Yirmiya, 1997; Avitsur, Donchin, Barak, Cohen eta Yirmiya, 1995; Merali, Brennan, Brau eta Anisman, 2003). Era beran, lehen esperimentuan esan dugun moduan, IL-10 maila txikiak jokabide depresiboarekin lotu dira bereziki emeetan (Mesquita et al., 2008). Bigarren esperimentu honetan IL-10 espresioan aldaketarik aurkitu ez izanak, zitokinen ekoizpen patroia estresa-aldiko erronka eta eskaeraren arabera aldatzen dela adieraz dezake. Gainera, baliteke aldaketa hauek eragin sotilak sortzea beste sistemetan, eta subjektuak hurrengo estresekiko urrakorrak izateko bidea ematea. Testuinguru honetan, interesgarria da adieraztea zitokinen ekoizpen zinetika ezberdina dela bi sexuetan (Kim et al., 2007), eta ondorioz, zitokinek une batean eragindako

jokabide erantzunak modu ezberdinean espresatu daitezke ar eta emeetan.

Ildo horretatik, estriatuan aurkitutako IL-6 espresioaren gorakada SPTn aurkitutako anhedoniarekin lotuta egon daiteke, eta baliteke lehen esperimentuan aurkitutako anhedonia jokabidea ere parametro fisiologiko horrekin lotuta egotea, nahiz eta estriatua neurtu ez genuenez ezin dugun baieztatu. Estriatua sari sisteman inplikaturako egitura da (Der-Avakian eta Markou, 2012), eta estres akutuaren ondorioz plasman IL-6 maila handiak zituzten emakumeetan, bigarren estresore baten aurrean sariaren auresate-errore seinalizazio murrizta aurkitu zuten (Treadway et al., 2017). Era berean, IL-6 areagotzea accumbens nukleoko dopamina gutxitzearekin erlazionatu izan da (Song et al., 1999). Gure laginean ordea, ez dugu estriatuko dopamina mailetan alderik aurkitu, baina kontuan izan behar da egitura osoa aztertu dugula, eta ez accumbens nukleoa modu isolatuan.

Gure lagineko hantura aldagaiei dagokienean, egitura ezberdinetan efektu ezberdina erakutsi du benlafaxinak. Batetik, estresak estriatuan areagotutako IL-6/IL-10 ratioa lehengoratu du, oreka inflamatorioaren egoeran efektu bat izan duela iradokiz. IL-6/IL-10 ratioa leheneratzea antidepresiboek, oro har, hantura gutxitzeko duten joerarekin bat dator (De Berardis et al., 2010; Kenis eta Maes, 2002; Vollmar et al., 2009). Ez du ordea IL-6 espresioa bera leheneratzea lortu, eta baliteke sakarosa

kontsumoa ez leheneratzeak horrekin zerikusia izatea. Hala ere, zitokinak areagotzea ere eragin dezakete antidepresiboek (Kubera et al., 2004; Munzer et al., 2013), eta efektu hori aztertutako egituraren arabera eta antidepresibo motaren arabera alda daiteke (Eskelund et al., 2017; Leonard, 2001). Ildo horretatik, gure emaitzek benlafaxinak hipokanpoko IL-1 β areagotzea eragin duela adierazten dute, Suzuki et al.-ek (1996) beste zenbait antidepresibo kronikoki eman ostean aurkitutakoarekin bat. Hala ere, aipatutako lanean, IL-1 β maila areagotuaz gain, IL-1 hartzailearen antagonista (IL-1Ra) maila ere igo zen. Emaitza horren harira, gure laginean IL-1Ra neurtu ez dugunez, ez dakigu benlafaxinak azken honen bitartez IL-1 β -ren hantura erreakzio kaltegarria ekiditen ote duen.

Lau asteko estresarekin gertatu moduan, zazpi asteko ESKE-k ez du eraginik izan hipotalamoko ER α eta ER β , eta hipokanpoko ER β -ren mRNA espresioan. Aldiz, hipokanpoko ER α espresioa areagotu du hipokanpoan. Aurreko lanek ere estresaren ondoriozko aldaketa hau aurkitu dute. Esaterako, era goiztiarren ezegonkortasun soziala pairatutako akuri emeen hipokanpoan ER α maila areagotua aurkitu zuten (Kaiser, Kruijver, Swaab eta Sachser, 2003), baita kumeengandik bereiziz estresatutako arratoi emeetan ere (Stamatakis et al., 2015). Azken lan horretan ER β -ren areagotzea ere aurkitu zuten, baina hipokanpo mailan CA2 eremura soilik mugatzen zen. Sharma eta Thakur-ek (2015) ere, estres kronikoaren ondoren hipokanpoko ER α espresio handitua aurkitu zuten, ER β espresioa txikiagotu zen bitartean. ER α -k jokabide sexualarekin ez ezik, gaitasun

kognitiboarekin ere badu lotura. Izan ere, hartzaile honen hipokanpoko goranzko erregulazioa oroimena finkatzeko gaitasun erasanarekin erlazionatu da (Frick, 2013). Ezagutza-sozialaren proban ere eragina du hartzaile honek saguak elkar ikuskatzeko garaian (Sánchez-Andrade eta Kendrick, 2011). ER α maila handiak zenbait jokabide agonistarekin ere lotu da sagu emeetan, hala nola, lurralde-oldarkortasuna eta gehiegizko *grooming*-arekin (Ervin et al., 2015). Esperimetu honetan proba kognitiborik erabili ez direnez, ezin da zehaztu estresak ER α -ri lotutako aldaketa kognitiborik eragin ote duen, baina hartzaileak ezagutza sozialean, lurralde-oldarkortasunean eta gehiegiko *grooming* jokabideetan eragin dezakeela kontuan izanda, baliteke *whisking* jokabidearekin lotura izatea. Benlafaxina tratamenduak aldiz, ez du inolako aldaketarik eragin estrogeno hartzaileetan.

Garuneko aktibitate monoaminergikoaren harira, lehen esperimentuan MHPG/NA eta 5-HIAA/5-HT ratio areagotuek aktibitate serotonergiko eta noradrenergiko handitua adierazi zuten hipokanpoan. Aktibitate handitu horrek, luzaroan iraunez gero, gutxiegitasun monoaminergikoranzko bilakaera izan zezakeela iradoki genuen. Hain zuzen ere, zazpi asteko estresak hipokanpoan 5-HT eta 5-HIAA eta NA mailak murriztea eragin du, sagu emeen hipokanpoan depresioarekin lotutako 5-HT eta NA maila baxuak topatutako beste lan batekin (Avraham et al., 2017) eta depresioaren hipotesi monoaminergikoarekin (Hirschfeld, 2000) ados. Glynn et al.-ek (2010) ere hipokanpoko NA eta 5-HIAA maila

baxuak gaitasun kognitibo erasanarekin lotu zituzten. Bestetik, gure lehen esperimentuan FST proban estresatuetan topatutako eskalatze jokabidea aktibitate monoaminergiko areagotuarekin lotu bazen, aktibazio monoaminergikoa desagertzean ez da jokabide honetan emandako denboraren igoerarik gertatu, itzarotekoa zen modura. Datu hauek, estresa luzatutzerakoan fenotipo antsiosoaren gainetik fenotipo depresiboa larriagotu dela iradokitzen dute. Horretaz gain, sagu estresatuek 5-HT maila txikiagoatuarekin batera, KYN/TRYP ratio handiagoa dutela aurkitu dugu hipokanpoan. Ratio horren areagotzea zitokinek eragindako IDO aktibazioarengatik, edo glukokortikoideek induzitutako TDO aktibazioagatik gerta daiteke maila zentralean (Green eta Curzon, 1975; Guillemin et al., 2007; Miller et al., 2004; O'Farrell eta Harkin, 2017). Beraz, gure lanean hipokanpoko zitokinen espresioan estresak aldaketarik eragin ez duela ikusita, baliteke KYN/TRYP ratioaren areagotzean TDO entzimak parte hartu izana. Beste alde batetik, 3-HK mailen areagotzerik aurkitu ez denez, ez dirudi kinureninaren bidetik metabolito neurotoxikoak modu esanguratsuan ekoitzi direnik, analisiak egin diren unean behintzat. Kontuan izan behar da hala ere, ikerketa hau monoamina mailetara eta haien erabilerara mugatu zela, eta beste aldaketa batzuk egon daitezkeela mekanismo-kateko maila ezberdinetan.

Kortex prefrontalari dagokionean, estresak 5-HIAA areagotu du, baita 5-HIAA/5-HT ratioa ere, baina igoera hau ez zen antsietate-motako

jokabideetan islatu. Era berean, estres sozial errepikatua jasandako sagu emeetan 5-HIAA maila areagotua aurkitu zuten egitura bereberetan eta ez hipokanpoan, ezta amigdalan ere (Jacobson-Pick et al., 2013). Baliteke areagotze hori aurkitutako kortikosterona maila altuak direla medio gertatu izana, dexametasona kronikoki jasotako arratoietan MAO-A aktibitate areagotuarekin erlazionatutako 5-HIAA/5-HT ratioa handiagoa aurkitu baitzuten kortex prefrontalean, ez ordea hipokanpoan (Raitsin et al., 2017). Kortex prefrontaleko aktibazioa egokitzailea izan daiteke hasiera batean ezegonkortasun sozialaren aurrean alerta egoera mantentzeko (Dolcos, Miller, Kragel, Jha eta McCarthy, 2007), baina, etengabeko aktibazioak kalte neuronalak eragingo dituen mekanismoak martxan jarri ditzakete (Andrews et al., 2015) edota 5-HTren gutxiegitasuna eragin epe luzera, depresioarekiko zaugarritasuna handituz. Badirudi beraz, hipokanpoan epe laburragoan agertutako defizit serotonergikoa, kortex prefrontalean agertzeko epe luzeagoa behar duela. Izan ere, depresioan inplikaturako funtzio metabolikoek aldaketa dinamika ezberdina aurkezten dute egituraren arabera (Bai et al., 2017; Bagot et al., 2016). Ratio serotonergiko areagotuz gain, DOPAC maila areagotua aurkitu dugu estresaren ostean. Antzera, autore batzuek DOPAC/DA ratioa areagotua aurkitu zuten arratoi arren kortex prefrontalean CRH administrazioaren ostean (Izzo, Sanna eta Koob, 2005). Aipatzekoa da, *whisking* jokabidea neurotransmisio dopaminergiko zentralarekin erlazionatu dela (Hill et al., 2007), eta beraz, interesgarria

litzake cortex prefrontaleko sistema dopaminergikoak *whisking*-aren agerpenean izan dezakeen eragina aztertzea.

Benlafaxina serotonina eta noradrenalina birxurgatzearen inhibitzailea izanik, hipokanpoan estresaren ondorioz gutxitutako 5-HT eta NA mailak leheneratzea espero zen, baina ez da eraginik ikusi aldagai horietan. Era berean, estriatuko monoaminetan ere ez du eraginik izan, eta bi egitura horien neurotransmisioan eraginik ez izatea bat dator jokabide probetan ere farmakoaren mendeko aldaketarik agertu ez izanarekin. Antidepressiboen eragina egituraren araberakoa izan daiteke baina (Muneoka, Shirayama, Takigawa eta Shioda, 2009), eta cortex prefrontalean benlafaxinak 5-HT eta DA-ren metabolito mailak aldatu ditu. Aldaketak horiek ez dira ordea jokabide probetan farmakoaren eraginik hauteman ahal izateko bezain sendoak izan. Hainbat ikerlanen arabera, antidepressiboen 5-HIAA mailak txikitu ohi dituzte (Abbas et al., 2012; De Oliveira et al., 2004). Hala ere, kontuan izan behar da lan gehienek 5-HIAA maila extrazelularrak neurtzen dituztela eta gure laginean egitura osoa prozesatu dela. Fenli et al.-ek (2013) ere, arratoietan 5-HIAA areagotua aurkitu zuten benlafaxina eman ostean garun osoa prozesatuta. Benlafaxinak dosi altuetan aktibitate dopaminergikoan zuzenean eragin badezake ere, 20mg/kg-ko dosiarekin, ez da zilegi mekanismo hori DOPAC igoseraren erantzule izatea. Baina ezagun da aktibitate serotonergikoak dopaminergikoan eragina izan dezakeela

zenbait serotonina-hartzaile medio (Bétry et al., 2011; Dremencov, Weizmann, Kinor, Gispan-Herman eta Yadid, 2006), eta baliteke subjektu estresatuetan benlafaxinak eragindako DOPAC mailaren igoera estresak eta farmakoak 5-HIAA maila areagotzen izandako eraginaren ondorio izatea.

Laburbilduz, bigarren esperimentu honetan 7 asteko ESKE ereduak depresio-motako zeinuak eragin ditu, anhedonia jokabideak, hipokanpoko serotonina eta noradrenalina mailen beherakadak eta kortikosterona maila altuek adierazi dutenez. Lau asteko estresak eskalatzeko jokabidearen bidez azaleratutako arousal areagotuak ez du antsietate-motako jokabideranzko bilakaera izan estresa luzatu denean, FST eta OFT-probetan ez baita estresaren araberako ezberdintasunik aurkitu. Zentzu horretan, batetik, emeen berezko lokomozio jarduera handia izaki, baliteke erabilitako jokabide testak portaera aldaketak antzemateko egokiak ez izatea, animalia arrekin eta arrentzako diseinatuak baitira. Bestetik, baliteke egoera kaltegarri iraunkorren aurrean saguen jokabidea eta fisiologia estresarekiko erantzun dinamikaren fase espezifikoko batean aurkitzea, hipotalamoko GR espresioan eta hipokanpoko IL-1 β eta ER α espresioan nahiz monoaminetan nabarmendu bezala. Egokitze mekanismoek etengabe jasotako presioak sistema erregulatzaileran erasan dutela iradokitzen dute aldaketa horiek (McEwen, 2004), desoreka bat eraginez eta subjektuek hurrengo estres egoera baten aurrean izan dezaketen zaugarritasuna

handituz. Benlafaxinak berriz, estresak areagotutako IL-6/IL-10 ratioa lehenagotatu badu, eta hipokanpoko GR espresioa igo badu ere, oro har, ez ditu esperotako efektuak eragin, eta estresak eragindako aldaketa fisiologikoak ikusita, baliteke bere ekintza mekanismoa aproposena ez izatea aurkitutako aldaketak lehenagotzeko.

Hala ere, kontuan izan behar da, benlafaxinaren inguruan argitaratutako emaitza prekliniko gehienak farmakoa modu prebentiboan emanda jasotakoak direla. Gurean berriz, antidepresiboaren administrazioa sintomak agertu ostean hasi da. Metodologia ezberdintasun hori, ikerketen arteko desadostasunen erantzule izan liteke hein handi batean. Zentzu horretan, kontuan izan behar da errealitate klinikoan antidepresiboak sintomak agertutakoan preskribatzen direla, eta ez lehenago. Farmakoa estresak efektua egin aurretik administratuz gero, nahasmenduaren sintomak tratatu ez, eta jokabide aldaketa antzuak eragiteko arriskua dago (Czéh, Fuchs, Wiborg eta Simon, 2016). Esate baterako, arratoi arrekin egindako ikerketa baten arabera, ikasketa afektiboa gertatu aurretik benlafaxina administratzeak joera positibo bat eragin zuen, aurrez ikasitako joera negatiboa lehenagotzeko garaian eraginik izan ez zuen bitartean (Stuart et al., 2015).

Etorkizuneko ikerketei begira, ESKE ereduak sagu emeetan depresio-motako aldaketa fisiologikoak eta jokabide aldaketak eragiten dituela ikusirik, interesgarria litzake estres-eredu hau beste ekintza mekanismo bat duten antidepresiboak probatzeko erabiltzea. Bestetik,

estresari lotutako nahasmendu ereduak ebaluatzeko sortutako jokabide probak animalia arretan oinarrituta daudenez, emeen jarduera aldaketak hauteman ahal izateko proben egokitzapena lantzea zilegi litzake. Animalia ereduetan jokabide irizpideak sexu berezitasunak errespetatuz doitu ezean ez dira errealitatea islatzen duten emaitzak jasoko, gizakietan sexuaren araberako ezberdintasunak aurkitu baitira depresioaren sintomatologian, emakumeetan depresio zeinuak antsietate zeinuekin batera sarri agertzen direlarik (Keers eta Aitchison, 2010; Marcus et al., 2008). Azkenik, emeen jokabide eta interakzio soziala balioesteko gidalerro espezifiko bat garatzeak subjektuen aurre egiteko estrategiak identifikatzen lagunduko luke, baita urrakortasun handiago ala txikiagoarekin lotutako jokabide profilak eta beraiekin lotutako aldaketa biologikoak identifikatzen ere.

V. KAPITULUA

ONDORIOAK

Tesi honetako bi esperimentuetan jasotako emaitzak kontuan izanda, honakoa ondorioztatu daiteke:

1. Lau asteko ESKE ereduak HPA ardatzaren desregulazioa sortzen du, zehazki, kortikosterona maila altua eta hipotalamoko GR espresio areagotua eragin ditu, depresioarekin lotzen den HPA ardatzaren hiperaktibitatearen adierazle.
2. Lau asteko ESKE ereduak hipokanpoko IL-10 zitokina antiinflamatorioaren espresioa murrizten du, zitokina proinflamatorioen etaIDO entzimaren espresioa aldatu gabe; aldaketa hauek emeen zitokina erantzun espezifiko bat iradokitzen dutelarik.
3. Lau asteko ESKE ereduak hipokanpoko hiperaktibitate serotonergiko eta noradrenergikoa eragiten du, eta aktibitate serotonergikoaren kasuan, 5-HT maila gutxituak estresak epe luzera gutxiegitasun monoaminergikoa eragin dezakeela iradokitzen du.
4. Lau asteko ESKE ereduak, aurrez aipatutako aldaketekin batera, antsietate eta depresio-motako jokabideak eragiten ditu.
5. Zazpi asteko ESKE ereduak ere HPA ardatzaren desregulazioa sortzen du, zehazki, hipotalamoko GR espresioa areagotzen du, antidepressiboek egin ohi duten modura, eta kortikosterona maila igotzen du, lau asteko estresak eragindako desregulazioarekiko patroiz ezberdina adieraziz.
6. Zazpi asteko ESKE ereduak hipokanpoko 5-HT, 5-HIAA eta NA maila baxuekin azaltzen den gutxiegitasun monoaminergikoa eragiten du, baita estriatuko IL-6 espresioa eta IL-6/IL-10 ratio areagotua ere, zeinak sakarosa lehenespen proban aurkitutako depresio-motako jokabidearen erantzule izan daitezkeen.
7. Aurrez aipatutako aldaketekin batera, cortex prefrontaleko monoaminen aldaketek eta hipokanpoko ER- α espresioa eta KYN/TRYP maila areagotuek adierazten dute, estresaren luzapenak ezegonkortasuna eragiten duela.

estresaren aurrean homeostasia mantentzeaz arduratzen diren sistemetan, etorkizuneko mehatxuen aurrean subjektuen zaurgarritasuna handituz.

8. Lau nahiz zazpi asteko estresa pairatutako subjektuetan behatutako *whisking* jokabidearen gehitzeak emeetan manifestatutako jokabidearen dimentsio emozianalean asaldura iradokitzen du, eta honek, estres sozialaren efektua emeetan ebaluatzeko ohikoak ez diren jokabideak aintzat hartzeko beharra azpimarratzen du.
9. Oro har, ESKE eredua sagu emeetan fenotipo depresiboarekin loturiko jokabide aldaketak eta aldaketa fisiologikoak eragiteko gai dela esan daiteke.
10. Benlafaxina tratamenduak hipokanpoko GR espresioa areagotu zuen eta estriatuko IL-6/IL-10 ratioa gutxitu zuen, biak ere tratamendu antidepressiboaren ondorioz espero daitezkeen efektuak direlarik.
11. Benlafaxinak beste aldagai fisiologiko eta jokabide aldagaietan eragin ez izanak, adieraz dezake bere ekintza mekanismoa ez dela estres eredu honek sortzen dituen efektuak lehengoratzeko aproposena.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Wahab, B. A., eta Salama, R. H. (2011). Venlafaxine protects against stress-induced oxidative DNA damage in hippocampus during antidepressant testing in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 100(1), 59-65. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2011.07.015>
- Abelaira, H. M., Reus, G. Z. eta Quevedo, J. (2013). Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 35(2), 112-120. <http://doi.org/10.1590/1516-4446-2013-1098>
- Aguilera, G. (1993). Factors controlling steroid biosynthesis in the zona glomerulosa of the adrenal. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 45(1-3), 147-151.
- Aguirre, C. C. eta Baudry, M. (2009). Progesterone reverses 17 β -estradiol-mediated neuroprotection and BDNF induction in cultured hippocampal slices. *European Journal of Neuroscience*, 29(3), 447-454. <http://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06591.x>
- Ahokas, A., Kaukoranta, J., Wahlbeck, K. eta Aito, M. (2001). Estrogen deficiency in severe postpartum depression: Successful treatment with sublingual physiologic 17 β -estradiol: A preliminary study. *The Journal of clinical psychiatry*, 62(5), 332-336. <http://dx.doi.org/10.4088/JCP.v62n0504>
- Akdis, C. A., Joss, A., Akdis, M., Faith, A. eta Blaser, K. (2000). A molecular basis for T cell suppression by IL-10: CD28-associated IL-10 receptor inhibits CD28 tyrosine phosphorylation and phosphatidylinositol 3-kinase binding. *The FASEB Journal*, 14(12), 1666-1668. <http://doi.org/10.1096/fj.99-0874fje>
- Albert, P. R. (2015). Why is depression more prevalent in women? *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 40(4), 219-221. <http://doi.org/10.1503/jpn.150205>
- Alfinito, P. D., Chen, X., Mastroeni, R., Pawlyk, A. C. eta Deecher, D. C. (2009). Estradiol increases catecholamine levels in the hypothalamus

BIBLIOGRAFIA

- of ovariectomized rats during the dark-phase. *European Journal of Pharmacology*, 616(1–3), 334–339.
<http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.06.045>
- Allen, A. E. C., Cragg, C. L., Wood, A. J., Pfaff, D. W. eta Choleris, E. (2010). Agonistic behavior in males and females: effects of an estrogen receptor beta agonist in gonadectomized and gonadally intact mice. *Psychoneuroendocrinology*, 35(7), 1008–1022.
<http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.01.002>
- American Psychiatric Association. (2014). Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (5. ed.). Washington.
- Amital, D., Fostick, L., Silberman, A., Beckman, M. eta Spivak, B. (2008). Serious life events among resistant and non-resistant MDD patients. *Journal of Affective Disorders*, 110(3), 260–264.
<http://doi.org/10.1016/j.jad.2008.01.006>
- Anderson, G. eta Maes, M. (2013). Oxidative/Nitrosative Stress and Immuno-inflammatory Pathways in Depression: Treatment Implications. *Current Pharmaceutical Design*, 20(23), 3812–3847.
<http://doi.org/10.2174/13816128113196660738>
- Andrews, P. W., Bharwani, A., Lee, K. R., Fox, M. eta Thomson, J. A. (2015). Is serotonin an upper or a downer? The evolution of the serotonergic system and its role in depression and the antidepressant response. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 51, 164–188.
<http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.01.018>
- Anisman, H. eta Merali, Z. (2002). Cytokines, stress, and depressive illness. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16(5), 513–524.
- Arató, M., Bánki, C. M., Bissette, G. eta Nemeroff, C. B. (1989). Elevated CSF CRF in suicide victims. *Biological Psychiatry*, 25(3), 355–359.
- Audet, M. C., Jacobson-Pick, S., Wann, B. P. eta Anisman, H. (2011). Social defeat promotes specific cytokine variations within the prefrontal cortex upon subsequent aggressive or endotoxin challenges. *Brain*,

- Behavior, and Immunity*, 25(6), 1197–1205.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.03.010>
- Audet, M. C., Mangano, E. N. eta Anisman, H. (2010). Behavior and pro-inflammatory cytokine variations among submissive and dominant mice engaged in aggressive encounters: moderation by corticosterone reactivity. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 4, 156. <http://doi.org/10.3389/fnbeh.2010.00156>
- Avitsur, R., Cohen, E. eta Yirmiya, R. (1997). Effects of interleukin-1 on sexual attractivity in a model of sickness behavior. *Physiology and Behavior*, 63(1), 25–30.
- Avitsur, R., Donchin, O., Barak, O., Cohen, E. eta Yirmiya, R. (1995). Behavioral effects of interleukin-1 β : Modulation by gender, estrus cycle, and progesterone. *Brain, Behavior, and Immunity*, 9(3), 234–241. [http://doi.org/10.1016/S0031-9384\(97\)00381-8](http://doi.org/10.1016/S0031-9384(97)00381-8)
- Avitsur, R., Stark, J. L. eta Sheridan, J. F. (2001). Social stress induces glucocorticoid resistance in subordinate animals. *Hormones and Behavior*, 39(4), 247–257. <http://doi.org/10.1006/brbi.1995.1022>
- Avraham, Y., Hants, Y., Vorobeiv, L., Staum, M., Abu Ahmad, W., Mankuta, D., ... Arbel-Alon, S. (2017). Brain neurotransmitters in an animal model with postpartum depressive-like behavior. *Behavioural Brain Research*, 326, 307–321. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.01.013>
- Bäckman, L., Nyberg, L., Lindenberger, U., Li, S. C. eta Farde, L. (2006). The correlative triad among aging, dopamine, and cognition: Current status and future prospects. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30(6), 791–807. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.06.005>
- Bagot, R. C. C., Cates, H. M. M., Purushothaman, I., Lorsch, Z. S. S., Walker, D. M. M., Wang, J., ... Nestler, E. J. J. (2016). Circuit-wide Transcriptional Profiling Reveals Brain Region-Specific Gene Networks Regulating Depression Susceptibility. *Neuron*, 90(5), 969–

BIBLIOGRAFIA

983. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.015>
- Bai, S., Hu, Q., Chen, Z., Liang, Z., Wang, W., Shen, P., ... Xie, P. (2017). Brain region-specific metabolite networks regulate antidepressant effects of venlafaxine. *RSC Advances*, 7(73), 46358-46369. <http://doi.org/10.1039/c7ra08726h>
- Bai, S., Zhang, X., Chen, Z., Wang, W., Hu, Q., Liang, Z., ... Chen, J. (2017). Insight into the metabolic mechanism of Diterpene Ginkgolides on antidepressant effects for attenuating behavioural deficits compared with venlafaxine. *Scientific reports*, 7(1), 9591. doi:10.1038/s41598-017-10391-1
- Bangasser, D. A. (2013). Sex differences in stress-related receptors: *Biology of Sex Differences*, 4(1), 2. <http://doi.org/10.1186/2042-6410-4-2>
- Bangasser, D. A. eta Valentino, R. J. (2014). Sex differences in stress-related psychiatric disorders: Neurobiological perspectives. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35(3), 303-319. <http://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.03.008>
- Bangasser, D. A. eta Wicks, B. (2017). Sex-specific mechanisms for responding to stress. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1-2), 75-82. <http://doi.org/10.1002/jnr.23812>
- Baranyi, J., Bakos, N. eta Haller, J. (2005). Social instability in female rats: The relationship between stress-related and anxiety-like consequences. *Physiology and Behavior*, 84(4), 511-518.
- Barrientos, R. M., Sprunger, D. B., Campeau, S., Higgins, E. A., Watkins, L. R., Rudy, J. W. eta Maier, S. F. (2003). Brain-derived neurotrophic factor mRNA downregulation produced by social isolation is blocked by intrahippocampal interleukin-1 receptor antagonist. *Neuroscience*, 121(4), 847-853.
- Barrientos, R. M., Thompson, V. M., Kitt, M. M., Amat, J., Hale, M. W., Frank, M. G., ... Maier, S. F. (2015). Greater glucocorticoid receptor

- activation in hippocampus of aged rats sensitizes microglia. *Neurobiology of Aging*, 36(3), 1483–1495. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.12.003>
- Bartolomucci, A., Palanza, P., Parmigiani, S., Pederzani, T., Merlot, E., Neveu, P. J. eta Dantzer, R. (2003). Chronic psychosocial stress down-regulates central cytokines mRNA. *Brain Research Bulletin*, 62(3), 173–178. <http://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2003.09.009>
- Bartolomucci, A., Palanza, P., Sacerdote, P., Panerai, A. E., Sgoifo, A., Dantzer, R. eta Parmigiani, S. (2005). Social factors and individual vulnerability to chronic stress exposure. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(1), 67-81.
- Beattie, E. C., Stellwagen, D., Morishita, W., Bresnahan, J. C., Ha, B. K., Von Zastrow, M., ... Malenka, R. C. (2002). Control of synaptic strength by glial TNF alpha. *Science (New York, N.Y.)*, 295(5563), 2282–2285. <http://doi.org/10.1126/science.1067859>
- Becker, C., Zeau, B., Rivat, C., Blugeot, A., Hamon, M. eta Benoliel, J. J. (2008). Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystokinin. *Molecular psychiatry*, 13(12), 1079. <http://doi:10.1038/sj.mp.4002097>
- Beery, A. K. eta Zucker, I. (2011). Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(3), 565–572. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.07.002>
- Bekhbat, M. eta Neigh, G. N. (2018). Sex differences in the neuro-immune consequences of stress: Focus on depression and anxiety. *Brain, Behavior, and Immunity*, 67, 1–12. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.02.006>
- Bekker, M. H. J. eta van Mens-Verhulst, J. (2007). Anxiety disorders: Sex differences in prevalence, degree, and background, but gender-neutral treatment. *Gender Medicine*, 4(2), 4, 178-193.

BIBLIOGRAFIA

[https://doi.org/10.1016/S1550-8579\(07\)80057-X](https://doi.org/10.1016/S1550-8579(07)80057-X)

- Bellavance, M.-A. eta Rivest, S. (2014). The HPA - immune axis and the immunomodulatory actions of glucocorticoids in the brain. *Frontiers in Immunology*, 5, 136. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00136>
- Bellingrath, S., Rohleder, N. eta Kudielka, B. M. (2013). Effort–reward-imbalance in healthy teachers is associated with higher LPS-stimulated production and lower glucocorticoid sensitivity of interleukin-6 in vitro. *Biological Psychology*, 92(2), 403–409. <http://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2012.12.003>
- Belmaker, R. H. eta Agam, G. (2008). Major depressive disorder. *The New England Journal of Medicine*, 358(1), 55–68. <http://doi.org/10.1056/NEJMra073096>
- Belzung, C. eta Lemoine, M. (2011). Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biology of Mood & Anxiety Disorders*, 1(1), 9. <http://doi.org/10.1186/2045-5380-1-9>
- Bernardino, L., Agasse, F., Silva, B., Ferreira, R., Grade, S. eta Malva, J. O. (2008). Tumor Necrosis Factor- α Modulates Survival, Proliferation, and Neuronal Differentiation in Neonatal Subventricular Zone Cell Cultures. *Stem Cells*, 26(9), 2361–2371. <http://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0914>
- Berridge, K. C. eta Kringelbach, M. L. (2008). Affective neuroscience of pleasure: reward in humans and animals. *Psychopharmacology*, 199(3), 457–80. <http://doi.org/10.1007/s00213-008-1099-6>
- Berry, R. J. eta Bronson, F. H. (1992). Life history and bioeconomy of the house mouse. *Biological Reviews*, 67(4), 519-550. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1992.tb01192.x>
- Besedovsky, H. O. eta Del Rey, A. (1996). Immune-Neuro-Endocrine Interactions: Facts and Hypotheses. *Endocrine Reviews*, 17(1), 64–102. <http://doi.org/10.1210/edrv-17-1-64>

- Bet, P. M., Hugtenburg, J. G., Penninx, B. W. J. H. eta Hoogendijk, W. J. G. (2013). Side effects of antidepressants during long-term use in a naturalistic setting. *European Neuropsychopharmacology*, 23(11), 1443–1451. <http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.05.001>
- Bétry, C., Etiévant, A., Oosterhof, C., Ebert, B., Sanchez, C. eta Haddjeri, N. (2011). Role of 5-HT₃ Receptors in the Antidepressant Response. *Pharmaceuticals*, 4(12), 603–629. <http://doi.org/10.3390/ph4040603>
- Bierhaus, A., Wolf, J., Andrassy, M., Rohleder, N., Humpert, P. M., Petrov, D., ... Nawroth, P. P. (2002). A mechanism converting psychosocial stress into mononuclear cell activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(4), 3–8.
- Binder, E. B. eta Nemeroff, C. B. (2010). The CRF system, stress, depression and anxiety—insights from human genetic studies. *Molecular Psychiatry*, 15(6), 574–588. <http://doi.org/10.1038/mp.2009.141>
- Birur, B., Amrock, E. M., Shelton, R. C. eta Li, L. (2017). Sex Differences in the Peripheral Immune System in Patients with Depression. *Frontiers in Psychiatry*, 8, 1–7. <http://doi.org/10.3389/fpsyt.2017.00108>
- Bjartmar, L., Johansson, I. M., Marcusson, J., Ross, S. B., Seckl, J. R. eta Olsson, T. (2000). Selective effects on NGFI-A, MR, GR and NGFI-B hippocampal mRNA expression after chronic treatment with different subclasses of antidepressants in the rat. *Psychopharmacology*, 151(1), 7–12. <http://doi.org/10.1007/s002130000468>
- Bjorkqvist, K. (2001). Social defeat as a stressor in humans. *Physiology & Behavior*, 73(3), 435–442. [http://doi.org/S0031-9384\(01\)00490-5](http://doi.org/S0031-9384(01)00490-5)
- Blanchard, D. C., (1995). Visible burrow system as a model of chronic social stress: Behavioral and neuroendocrine correlates. *Psychoneuroendocrinology*, 20(2), 117–134.
- Blanchard, D. C., Cholvanich, P., Blanchard, R. J., Clow, D. W., Hammer, R.

BIBLIOGRAFIA

- P., Rowlett, J. K. eta Bardo, M. T. (1991). Serotonin, but not dopamine, metabolites are increased in selected brain regions of subordinate male rats in a colony environment. *Brain Research*, 568(1–2), 61–66. [http://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91379-F](http://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91379-F)
- Blanchard, R. J., McKittrick, C. R. eta Blanchard, D. C. (2001). Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. *Physiology & Behavior*, 73(3), 261–271. [http://doi.org/S0031-9384\(01\)00449-8](http://doi.org/S0031-9384(01)00449-8)
- Blatt, S. J. (2004). *Experiences of depression : theoretical, clinical, and research perspectives*. American Psychological Association.
- Blazer, D. G. eta Hybels, C. F. (2005). Origins of depression in later life. *Psychological medicine*, 35(9), 1241-1252. <https://doi.org/10.1017/S0033291705004411>
- Bluthe, R. M., Castanon, N., Pousset, F., Bristow, A., Ball, C., Lestage, J., ... Dantzer, R. (1999). Central injection of IL-10 antagonizes the behavioural effects of lipopolysaccharide in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 24(3), 301–311.
- Boldrini, M., Underwood, M. D., Mann, J. J. eta Arango, V. (2008). Serotonin-1A autoreceptor binding in the dorsal raphe nucleus of depressed suicides. *Journal of Psychiatric Research*, 42(6), 433–442. <http://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2007.05.004>
- Bourke, C. H., Harrell, C. S. eta Neigh, G. N. (2012). Stress-induced sex differences: adaptations mediated by the glucocorticoid receptor. *Hormones and behavior*, 62(3), 210-218. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.02.024>
- Bourke, C. H., Raees, M. Q., Malviya, S., Bradburn, C. A., Binder, E. B. eta Neigh, G. N. (2013). Glucocorticoid sensitizers Bag1 and Ppid are regulated by adolescent stress in a sex-dependent manner. *Psychoneuroendocrinology*, 38(1), 84–93. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.05.001>

- Brain, P. F. (1972). Endocrine and behavioral differences between dominant and subordinate male house mice housed in pairs. *Psychonomic Science*, 28(5), 260-262. <http://doi.org/10.3758/BF03328732>
- Breslau, N., Schultz, L. eta Peterson, E. (1995). Sex differences in depression: a role for preexisting anxiety. *Psychiatry Research*, 58(1), 1-12.
- Bull, S. J., Huezo-Diaz, P., Binder, E. B., Cubells, J. F., Ranjith, G., Maddock, C., ... Norris, S. (2009). Functional polymorphisms in the interleukin-6 and serotonin transporter genes, and depression and fatigue induced by interferon- α and ribavirin treatment. *Molecular psychiatry*, 14(12), 1095.
- Burnett, F. E. eta Dinan, T. G. (1998). Venlafaxine. pharmacology and therapeutic potential in the treatment of depression. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 13(3), 153-162.
- Busch, M. A., Maske, U. E., Ryl, L., Schlack, R. eta Hapke, U. (2013). Prevalence of depressive symptoms and diagnosed depression among adults in Germany: results of the German Health Inter- view and Examination Survey for Adults (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 56(5-6), 733-739. <http://doi.org/10.1007/s00103-013-1688-3>
- Cahill, L. (2012). A Half-Truth Is a Whole Lie: On the Necessity of Investigating Sex Influences on the Brain. *Endocrinology*, 153(6), 2541-2543. <http://doi.org/10.1210/en.2011-2167>
- Calabrese, F., Molteni, R., Maj, P. F., Cattaneo, A., Gennarelli, M., Racagni, G. eta Riva, M. A. (2007). Chronic duloxetine treatment induces specific changes in the expression of BDNF transcripts and in the subcellular localization of the neurotrophin protein. *Neuropsychopharmacology*, 32(11), 2351-2359. <http://doi.org/1301360>

BIBLIOGRAFIA

Cannon, W. B. (1939). *The Wisdom of the Body*. New York: W. W. Norton.

Capuron, L. eta Dantzer, R. (2003). Cytokines and depression: the need for a new paradigm. *Brain, behavior, and immunity*, *17*(1), 119-124.

Capuron, L., Gumnick, J. F., Musselman, D. L., Lawson, D. H., Reemsnyder, A., Nemeroff, C. B., & Miller, A. H. (2002). Neurobehavioral effects of interferon- α in cancer patients: phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology*, *26*(5), 643-652.

Capuron, L. eta Miller, A. H. (2004). Cytokines and psychopathology: Lessons from interferon- α . *Biological Psychiatry*, *56*(11), 819–824. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.02.009>

Capuron, L. eta Miller, A. H. (2011). Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. *Pharmacology & Therapeutics*, *130*(2), 226–38. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.014>

Capuron, L., Neurauter, G., Musselman, D. L., Lawson, D. H., Nemeroff, C. B., Fuchs, D. eta Miller, A. H. (2003). Interferon-alpha-induced changes in tryptophan metabolism. *Biological Psychiatry*, *54*(9), 906-914. [http://doi.org/10.1016/S0006-3223\(03\)00173-2](http://doi.org/10.1016/S0006-3223(03)00173-2)

Cavanagh, A., Wilson, C. J., Kavanagh, D. J. eta Caputi, P. (2017). Differences in the Expression of Symptoms in Men Versus Women with Depression. *Harvard Review of Psychiatry*, *25*(1), 29–38. <http://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000128>

Cavigelli, S. A. eta Chaudhry, H. S. (2012). Social status, glucocorticoids, immune function, and health: can animal studies help us understand human socioeconomic-status-related health disparities? *Hormones and behavior*, *62*(3), 295-313. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.07.006>

Chand, D. eta Lovejoy, D. A. (2011). Stress and reproduction: controversies and challenges. *General and Comparative Endocrinology*, *171*(3),

- 253–7. <http://doi.org/10.1016/j.ygcen.2011.02.022>
- Chao, H. M., Choo, P. H. eta McEwen, B. S. (1989). Glucocorticoid and Mineralocorticoid Receptor mRNA Expression in Rat Brain. *Neuroendocrinology*, 50(4), 365–371. <http://doi.org/10.1159/000125250>
- Chaouloff, F. (2013). Social stress models in depression research: what do they tell us? *Cell and Tissue Research*, 354(1), 179–190. <http://doi.org/10.1007/s00441-013-1606-x>
- Charney, D. S. (1998). Monoamine dysfunction and the pathophysiology and treatment of depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 59(1), 11–14. <http://doi.org/10.1186/1471-2202-13-125>
- Chen, H., Lin, W., Zhang, Y., Lin, L., Chen, J., Zeng, Y., ... Chen, R. (2016). IL-10 promotes neurite outgrowth and synapse formation in cultured cortical neurons after the oxygen-glucose deprivation via JAK1/STAT3 pathway. *Scientific reports*, 6, 30459.
- Chrousos, G. P. (1998). Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851(1), 311–335. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09006.x>
- Chrousos, G. P. eta Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 267(9), 1244–1252. <http://doi.org/10.1001/jama.267.9.1244>
- Clipperton-Allen, A. E., Almey, A., Melichercik, A., Allen, C. P. eta Choleris, E. (2011). Effects of an estrogen receptor alpha agonist on agonistic behaviour in intact and gonadectomized male and female mice. *Psychoneuroendocrinology*, 36(7), 981–995. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.12.010>
- Cockerham, W. C. (2013). Bourdieu and an update of health lifestyle theory. In *Medical Sociology on the Move: New Directions in Theory*

BIBLIOGRAFIA

- (127–154 orriak). Springer, Dordrecht.
- Cohen, H. eta Yehuda, R. (2011). Gender differences in animal models of posttraumatic stress disorder. *Disease Markers*, *30*(2–3), 141–150.
- Collins, P. Y., Patel, V., Joestl, S. S., March, D., Insel, T. R., Daar, A. S., ... Glass, R. I. (2011). Grand challenges in global mental health. *Nature*, *475*(7354), 27. <http://doi.org/10.1038/475027a>
- Connor, T. J., Kelliher, P., Shen, Y., Harkin, A., Kelly, J. P. eta Leonard, B. E. (2000). Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced-swim test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *65*(4), 591–597. [http://doi.org/10.1016/S0091-3057\(99\)00192-6](http://doi.org/10.1016/S0091-3057(99)00192-6)
- Cryan, J. F., Valentino, R. J. eta Lucki, I. (2005). Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *29*(4–5), 547–569. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.008>
- Curran, C., Knapp, M., McDaid, D., Tómasson, K. eta Group, T. M. (2007). Mental health and employment: An overview of patterns and policies across Western Europe. *Journal of Mental Health*, *16*(2), 195–209. <http://doi.org/10.1080/09638230701279865>
- Curtis, A. L., Bethea, T. eta Valentino, R. J. (2006). Sexually Dimorphic Responses of the Brain Norepinephrine System to Stress and Corticotropin-Releasing Factor. *Neuropsychopharmacology*, *31*(3), 544–554. <http://doi.org/10.1038/sj.npp.1300875>
- Czéh, B., Fuchs, E., Wiborg, O. eta Simon, M. (2016). Animal models of major depression and their clinical implications. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *64*, 293–310. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.04.004>
- Czlonkowska, A., Ciesielska, A., Gromadzka, G. eta Kurkowska-Jastrzebska, I. (2006). Gender Differences in Neurological Disease: Role of

- Estrogens and Cytokines. *Endocrine*, 29(2), 243–256.
<http://doi.org/10.1385/ENDO:29:2:243>
- Dadomo, H., Gioiosa, L., Cigalotti, J., Ceresini, G., Parmigiani, S. et al Palanza, P. (2017). What is stressful for females? Differential effects of unpredictable environmental or social stress in CD1 female mice. *Hormones and Behavior*, 98, 22–32.
<http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.11.013>
- Dalla, C., Antoniou, K., Kokras, N., Drossopoulou, G., Papathanasiou, G., Bekris, S., ... Papadopoulou-Daifoti, Z. (2008). Sex differences in the effects of two stress paradigms on dopaminergic neurotransmission. *Physiology & Behavior*, 93(3), 595–605.
<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.10.020>
- Dalla, C., Pitychoutis, P. M., Kokras, N. et al Papadopoulou-Daifoti, Z. (2010). Sex differences in animal models of depression and antidepressant response. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 106(3), 226–33. <http://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2009.00516.x>
- Dalla, C. et al Shors, T. J. (2009). Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning. *Physiology & behavior*, 97(2), 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.02.035>
- Daniel, J. M., Fader, A. J., Spencer, A. L. et al Dohanich, G. P. (1997). Estrogen enhances performance of female rats during acquisition of a radial arm maze. *Hormones and Behavior*, 32(3), 217–225.
<http://doi.org/10.1006/hbeh.1997.1433>
- Dantzer, R. (2001). Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 933, 222–34. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12000023>
- Dantzer, R. et al Capuron, L. (2017). *Inflammation-Associated Depression: Evidence, Mechanisms and Implications*. Springer International Publishing.

BIBLIOGRAFIA

- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W. eta Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews. Neuroscience*, 9(1), 46–56.
- De Berardis, D., Conti, C. M. V, Serroni, N., Moschetta, F. S., Olivieri, L., Carano, A., ... Di Giannantonio, M. (2010). The effect of newer serotonin-noradrenalin antidepressants on cytokine production: A review of the current literature. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 23(2), 417–422.
- De Kloet, E. R. eta Molendijk, M. L. (2016). Coping with the Forced Swim Stressor: Towards Understanding an Adaptive Mechanism. *Neural Plasticity*, 2016, 1–13. <http://doi.org/10.1155/2016/6503162>
- De Oliveira, R. A., Cunha, G. M. A., Karla, K. D., De Bruin, G. S., Dos Santos-Filho, E. A., Viana, G. S. B. eta De Bruin, V. M. S. (2004). The effect of venlafaxine on behaviour, body weight and striatal monoamine levels on sleep-deprived female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 79(3), 499–506. <http://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.09.001>
- De Waal Malefyt, R., Abrams, J., Bennett, B., Figdor, C. G. eta de Vries, J. E. (1991). Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *The Journal of Experimental Medicine*, 174(5), 1209–20.
- Deakin, B. eta Dursun, S. (2002). Optimizing antidepressant treatment: efficacy and tolerability. *International clinical psychopharmacology*, 17, 13-24.
- D'Elia, H. F. eta Carlsten, H. (2008). The impact of hormone replacement therapy on humoral and cell-mediated immune responses in vivo in post-menopausal women with rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Immunology*, 68(6), 661–667.
- Deltheil, T., Tanaka, K., Reperant, C., Hen, R., David, D. J. eta Gardier, A.

- M. (2009). Synergistic neurochemical and behavioural effects of acute intrahippocampal injection of brain-derived neurotrophic factor and antidepressants in adult mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(7), 905–915. <http://doi.org/10.1017/S1461145709000017>
- Dennis, A. P. eta O'Malley, B. W. (2005). Rush hour at the promoter: How the ubiquitin-proteasome pathway polices the traffic flow of nuclear receptor-dependent transcription. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 93(2–5), 139–151. <http://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2004.12.015>
- Detke, M. J., Rickels, M. eta Lucki, I. (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 121(1), 66–72. <http://doi.org/10.1007/BF02245592>
- Dhabhar, F. S. (2003). Stress, leukocyte trafficking, and the augmentation of skin immune function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 992(1), 205–17. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb03151.x>
- Dhabhar, F. S. (2009). Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation*, 16(5), 300–317. <http://doi.org/000216188>
- DiBlasio, C. J., Hammett, J., Malcolm, J. B., Judge, B. A., Womack, J. H., Kincade, M. C., ... eta Derweesh, I. H. (2008). Prevalence and predictive factors for the development of de novo psychiatric illness in patients receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer. *The Canadian journal of urology*, 15(5), 4249-56.
- Dinan, T. G. (1994). Glucocorticoids and the genesis of depressive illness. A psychobiological model. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 164(3), 365–371. <http://doi.org/10.1192/bjp.164.6.853b>

BIBLIOGRAFIA

- Dolcos, F., Miller, B., Kragel, P., Jha, A. eta McCarthy, G. (2007). Regional brain differences in the effect of distraction during the delay interval of a working memory task. *Brain Research*, 1152(1), 171–181. <http://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.03.059>
- Dowlati, Y., Herrmann, N., Swardfager, W., Liu, H., Sham, L., Reim, E. K. eta Lanctôt, K. L. (2010). A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. *Biological Psychiatry*, 67(5), 446–457.
- Dremencov, E., Weizmann, Y., Kinor, N., Gispan-Herman, I. eta Yadid, G. (2006). Modulation of dopamine transmission by 5-HT_{2C} and 5-HT₃ receptors: a role in the antidepressant response. *Current Drug Targets*, 7(2), 165–75.
- Du, J., Wang, Y., Hunter, R., Wei, Y., Blumenthal, R., Falke, C., ... Manji, H. K. (2009). Dynamic regulation of mitochondrial function by glucocorticoids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(9), 3543–8. <http://doi.org/10.1073/pnas.0812671106>
- Duchesne, A., Dufresne, M. M. eta Sullivan, R. M. (2009). Sex differences in corticolimbic dopamine and serotonin systems in the rat and the effect of postnatal handling. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(2), 251–261. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.11.012>
- Duman, R. S. (2004). Depression: A case of neuronal life and death? *Biological Psychiatry*, 56(3), 140-5. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.02.033>
- Duman, R. S. eta Monteggia, L. M. (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biological Psychiatry*, 59(12), 1116–27. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.02.013>
- Eisenberger, N. I., Inagaki, T. K., Rameson, L. T., Mashal, N. M. eta Irwin, M. R. (2009). An fMRI study of cytokine-induced depressed mood and social pain: The role of sex differences. *NeuroImage*, 47(3), 881–890.

- Ervin, K. S. J., Lymer, J. M., Matta, R., Clipperton-Allen, A. E., Kavaliers, M. eta Choleric, E. (2015). Estrogen involvement in social behavior in rodents: Rapid and long-term actions. *Hormones and Behavior*, 7, 53-76. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.05.023>
- Eskelund, A., Budac, D. P., Sanchez, C., Elfving, B. eta Wegener, G. (2016). Female Flinders Sensitive Line rats show estrous cycle-independent depression-like behavior and altered tryptophan metabolism. *Neuroscience*, 329, 337–348. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.024>
- Eskelund, A., Li, Y., Budac, D. P., Müller, H. K., Gulinello, M., Sanchez, C. eta Wegener, G. (2017). Drugs with antidepressant properties affect tryptophan metabolites differently in rodent models with depression-like behavior. *Journal of Neurochemistry*, 142(1), 118–131. <http://doi.org/10.1111/jnc.14043>
- Felger, J. C. eta Lotrich, F. E. (2013). Inflammatory cytokines in depression: Neurobiological mechanisms and therapeutic implications, 246, 199-229 *Neuroscience*.
- Fischer, A. G., Jocham, G. eta Ullsperger, M. (2015). Dual serotonergic signals: a key to understanding paradoxical effects? *Trends in Cognitive Sciences*, 19(1), 21–26. <http://doi.org/10.1016/j.tics.2014.11.004>
- Freidin, M., Bennett, M. V eta Kessler, J. A. (1992). Cultured sympathetic neurons synthesize and release the cytokine interleukin 1 beta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(21), 10440–10443.
- Frick, K. M. (2013, November 1). Epigenetics, oestradiol and hippocampal memory consolidation. *Journal of Neuroendocrinology*, 25(11), 1151-1162. <http://doi.org/10.1111/jne.12106>
- Fuller, R. W. (1992). The involvement of serotonin in regulation of pituitary-adrenocortical function. *Frontiers in Neuroendocrinology*,

13(3), 250–270.

- Garner, J. P., Dufour, B., Gregg, L. E., Weisker, S. M. eta Mench, J. A. (2004). Social and husbandry factors affecting the prevalence and severity of *barbering* (“whisker trimming”) by laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science*, 89(3–4), 263–282. <http://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.07.004>
- Garner, J. P., Weisker, S. M., Dufour, B. eta Mench, J. A. (2004). *Barbering* (fur and whisker trimming) by laboratory mice as a model of human trichotillomania and obsessive-compulsive spectrum disorders. *Comparative Medicine*, 54(2), 216–224.
- Garrido, P., de Blas, M., del Arco, A., Segovia, G. eta Mora, F. (2012). Aging increases basal but not stress-induced levels of corticosterone in the brain of the awake rat. *Neurobiology of Aging*, 33(2), 375–382. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.02.015>
- Gavillet, M., Allaman, I. eta Magistretti, P. J. (2008). Modulation of astrocytic metabolic phenotype by proinflammatory cytokines. *Glia*, 56(9), 975–989. <http://doi.org/10.1002/glia.20671>
- Gilbey, M. P. eta Michael Spyer, K. (1993). Essential organization of the sympathetic nervous system. *Bailliere’s Clinical Endocrinology and Metabolism*, 7(2), 259–278. [http://doi.org/10.1016/S0950-351X\(05\)80177-6](http://doi.org/10.1016/S0950-351X(05)80177-6)
- Gill, J. S., Jamwal, S., Kumar, P. eta Deshmukh, R. (2017). Sertraline and venlafaxine improves motor performance and neurobehavioral deficit in quinolinic acid induced Huntington’s like symptoms in rats: Possible neurotransmitters modulation. *Pharmacological Reports*, 69(2), 306-313. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.11.008>
- Gillespie, C. eta Mayberg, G. (2016). Depressive Disorders: Depression. N. D. Volkow (Ed.), *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical*, bigarren edizioa (3967-3983 orriak). Springer. https://10.1007/978-1-4939-3474-4_116

- Gilman, S. E., Trinh, N.-H., Smoller, J. W., Fava, M., Murphy, J. M. et al Breslau, J. (2013). Psychosocial stressors and the prognosis of major depression: a test of Axis IV. *Psychological Medicine*, 43(2), 303–316. <http://doi.org/10.1017/S0033291712001080>
- Glynn, D., Gibson, H. E., Harte, M. K., Reim, K., Jones, S., Reynolds, G. P. et al Morton, A. J. (2010). Clorgyline-mediated reversal of neurological deficits in a Complexin 2 knockout mouse. *Human Molecular Genetics*, 19(17), 3402–3412. <http://doi.org/10.1093/hmg/ddq252>
- Goel, N. et al Bale, T. L. (2008). Organizational and activational effects of testosterone on masculinization of female physiological and behavioral stress responses. *Endocrinology*, 149(12), 6399–6405. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0433>
- Gold, P. W. et al Chrousos, G. P. (2002). Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Molecular Psychiatry*, 7(3), 254–275. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001032>
- Golde, W. T., Gollobin, P. et al Rodriguez, L. L. (2005). A rapid, simple, and humane method for submandibular bleeding of mice using a lancet. *Lab Animal*, 34(9), 39–43. <http://doi.org/lab1005-39>
- Goldstein, D. S. et al McEwen, B. (2002). Allostasis, homeostats, and the nature of stress. *Stress*, 5(1), 55–58. <http://doi.org/10.1080/102538902900012345>
- Goldstein, J. M., Jerram, M., Abbs, B., Whitfield-Gabrieli, S. et al Makris, N. (2010). Sex differences in stress response circuitry activation dependent on female hormonal cycle. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(2), 431–438. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3021-09.2010>
- Gomez, M. L., Martinez-Mota, L., Estrada-Camarena, E. et al Fernandez-Guasti, A. (2014). Influence of the brain sexual differentiation process on despair and antidepressant-like effect of fluoxetine in the rat

BIBLIOGRAFIA

- forced swim test. *Neuroscience*, 261, 11-22. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.12.035>
- Gómez-Lázaro, E., Arregi, A., Beitia, G., Vegas, O., Azpiroz, A. eta Garmendia, L. (2011). Individual differences in chronically defeated male mice: behavioral, endocrine, immune, and neurotrophic changes as markers of vulnerability to the effects of stress. *Stress*, 14(5), 537-548. <https://doi.org/10.3109/10253890.2011.562939>
- Gómez-Lázaro, E., Garmendia, L., Beitia, G., Perez-Tejada, J., Azpiroz, A. eta Arregi, A. (2012). Effects of a putative antidepressant with a rapid onset of action in defeated mice with different coping strategies. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 38(2), 317–327. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.04.019>
- Goodale, E. (2007). Síntomas cognitivos de la depresión. *Revista de Toxicomanías*, 50, 13–15.
- Goshen, I., Kreisel, T., Ben-Menachem-Zidon, O., Licht, T., Weidenfeld, J., Ben-Hur, T. eta Yirmiya, R. (2008). Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Molecular Psychiatry*, 13(7), 717–728. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4002055>
- Green, A. R. eta Curzon, G. (1975). Effects of hydrocortisone and immobilization on tryptophan metabolism in brain and liver of rats of different ages. *Biochemical Pharmacology*, 24(6), 713–716. [http://doi.org/10.1016/0006-2952\(75\)90248-8](http://doi.org/10.1016/0006-2952(75)90248-8)
- Grossman, C. (1989). Possible underlying mechanisms of sexual dimorphism in the immune response, fact and hypothesis. *Journal of Steroid Biochemistry*, 34(1–6), 241–251. [http://doi.org/10.1016/0022-4731\(89\)90088-5](http://doi.org/10.1016/0022-4731(89)90088-5)
- Guillemin, G. J., Cullen, K. M., Lim, C. K., Smythe, G. A., Garner, B., Kapoor, V., ... Brew, B. J. (2007). Characterization of the Kynurenine Pathway in Human Neurons. *Journal of Neuroscience*, 27(47), 12884–12892.

<http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4101-07.2007>

- Gutiérrez-Lobos, K., Scherer, M., Anderer, P. eta Katschnig, H. (2002). The influence of age on the female/male ratio of treated incidence rates in depression. *BMC psychiatry*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-2-3>
- Haapakoski, R., Mathieu, J., Ebmeier, K. P., Alenius, H. eta Kivimäki, M. (2015). Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 49, 206–215. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.06.001>
- Hall, C. eta Ballachey, E. L. (1932). A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. *University of California Publications in Psychology*, 6, 1–12.
- Haller, J., Baranyi, J., Bakos, N. eta Halász, J. (2004). Social instability in female rats: effects on anxiety and buspirone efficacy. *Psychopharmacology*, 174(2), 197–202. <http://doi.org/10.1007/s00213-003-1746-x>
- Haller, J., Fuchs, E., Halász, J. eta Makara, G. B. (1999). Defeat is a major stressor in males while social instability is stressful mainly in females: towards the development of a social stress model in female rats. *Brain Research Bulletin*, 50(1), 33–39. [http://doi.org/10.1016/S0361-9230\(99\)00087-8](http://doi.org/10.1016/S0361-9230(99)00087-8)
- Haller, J., Fuchs, E., Halász, J. eta Makara, G. B. (1999). Defeat is a major stressor in males while social instability is stressful mainly in females: towards the development of a social stress model in female rats. *Brain Research Bulletin*, 50(1), 33–9.
- Hamidi, M., Drevets, W. C. eta Price, J. L. (2004). Glial reduction in amygdala in major depressive disorder is due to oligodendrocytes. *Biological Psychiatry*, 55(6), 563–569. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2003.11.006>

BIBLIOGRAFIA

- Hammen, C. (2005). Stress and Depression. *Annual Review of Clinical Psychology*, 1(1), 293–319. <http://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.1.102803.143938>
- Hammen, C., Kim, E. Y., Eberhart, N. K. eta Brennan, P. A. (2009). Chronic and acute stress and the prediction of major depression in women. *Depression and Anxiety*, 26(8), 718–723. <http://doi.org/10.1002/da.20571>
- Han, A., Yeo, H., Park, M.-J., Kim, S. H., Choi, H. J., Hong, C.-W. eta Kwon, M.-S. (2015). IL-4/10 prevents stress vulnerability following imipramine discontinuation. *Journal of Neuroinflammation*, 12(1), 197. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0416-3>
- Handa, R. J., Mani, S. K. eta Uht, R. M. (2012). Estrogen receptors and the regulation of neural stress responses. *Neuroendocrinology*, 96(2), 111-118. <https://doi.org/10.1159/000338397>
- Handa, R. J. eta Weiser, M. J. (2014). Gonadal steroid hormones and the hypothalamo–pituitary–adrenal axis. *Frontiers in neuroendocrinology*, 35(2), 197-220. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.11.001>
- Haridas, S., Ganapathi, R., Kumar, M. eta Manda, K. (2018). Whisker dependent responsiveness of C57BL/6J mice to different behavioral test paradigms. *Behavioural Brain Research*, 336, 51–58. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.08.004>
- Harkness, K. L., Theriault, J. E., Stewart, J. G. eta Bagby, R. M. (2014). Acute and chronic stress exposure predicts 1-year recurrence in adult outpatients with residual depression symptoms following response to treatment. *Depression and Anxiety*, 31(1), 1–8. <http://doi.org/10.1002/da.22177>
- Haroon, E., Raison, C. L. eta Miller, A. H. (2012). Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. *Neuropsychopharmacology* :

- Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(1), 137–62.
<http://doi.org/10.1038/npp.2011.205>
- Harpaz, I., Abutbul, S., Nemirovsky, A., Gal, R., Cohen, H. eta Monsonego, A. (2013). Chronic exposure to stress predisposes to higher autoimmune susceptibility in C57BL/6 mice: Glucocorticoids as a double-edged sword. *European Journal of Immunology*, 43(3), 758–769. <http://doi.org/10.1002/eji.201242613>
- Hayley, S., Poulter, M. O., Merali, Z. eta Anisman, H. (2005). The pathogenesis of clinical depression: Stressor- and cytokine-induced alterations of neuroplasticity. *Neuroscience*, 135(3), 659–678. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.051>
- Herman, J. P. eta Cullinan, W. E. (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis. *Trends in Neurosciences*, 20(2), 78–84. [http://doi.org/10.1016/S0166-2236\(96\)10069-2](http://doi.org/10.1016/S0166-2236(96)10069-2)
- Herzog, C. J., Czéh, B., Corbach, S., Wuttke, W., Schulte-Herbrüggen, O., Hellweg, R., ... Fuchs, E. (2009). Chronic social instability stress in female rats: A potential animal model for female depression. *Neuroscience*, 159(3), 982–992. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.01.059>
- Heuser, I. J., Schweiger, U., Gotthardt, U., Schmider, J., Lammers, C. H., Dettling, M., ... Holsboer, F. (1996). Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyline treatment in elderly depressed patients and normal comparison subjects. *The American Journal of Psychiatry*, 153(1), 93–99.
- Hill, R. a., McInnes, K. J., Gong, E. C. H., Jones, M. E. E., Simpson, E. R. eta Boon, W. C. (2007). Estrogen Deficient Male Mice Develop Compulsive Behavior. *Biological Psychiatry*, 61(3), 359–366. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.01.012>

BIBLIOGRAFIA

- Hirschfeld, R. M. (2000). History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 61(6) 4–6. <http://doi.org/10.4088/JCP.v61n0201>
- Hofer, M., Pagliusi, S. R., Hohn, A., Leibrock, J. eta Barde, Y. A. (1990). Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *The EMBO Journal*, 9(8), 2459–64.
- Holder, M. K. eta Blaustein, J. D. (2014). Puberty and adolescence as a time of vulnerability to stressors that alter neurobehavioral processes. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35(1), 89–110. <http://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.10.004>
- Holliday, S. eta Benfield, P. (1995). Venlafaxine: a review of its pharmacology and therapeutic potential in depression. *Drugs*, 49: 280-94.
- Holsboer, F. (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology*, 23(5), 477–501. [http://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00159-7](http://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00159-7)
- Holsboer, F. eta Barden, N. (1996). Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocrine Reviews*, 17(2), 187–205. <http://doi.org/10.1210/edrv-17-2-187>
- Howren, M. B., Lamkin, D. M. eta Suls, J. (2009). Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosomatic Medicine*, 71(2), 171–186. <http://doi.org/10.1097/PSY.0b013e3181907c1b>
- Hsu, D. T., Langenecker, S. A., Kennedy, S. E., Zubieta, J. K. eta Heitzeg, M. M. (2010). fMRI BOLD responses to negative stimuli in the prefrontal cortex are dependent on levels of recent negative life stress in major depressive disorder. *Psychiatry Research - Neuroimaging*, 183(3), 202–208. <http://doi.org/10.1016/j.psychresns.2009.12.002>
- Hudson, S. P., Jacobson-Pick, S. eta Anisman, H. (2014). Sex differences in behavior and pro-inflammatory cytokine mRNA expression following

- stressor exposure and re-exposure. *Neuroscience*, 277, 239-249. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.07.007>
- Hughes, J. W., Dennis, M. F. eta Beckham, J. C. (2007). Baroreceptor sensitivity at rest and during stress in women with posttraumatic stress disorder or major depressive disorder. *Journal of Traumatic Stress*, 20(5), 667–676. <http://doi.org/10.1002/jts.20285>
- Il'ina, N. A. (2009). Experience of the use of velaxin (venlafaxine) in anxious depression. *Neuroscience and behavioral physiology*, 39(3), 305-309.
- Iranmanesh, A., Lizarralde, G., Short, D. eta Veldhuis, J. D. (1990). Intensive venous sampling paradigms disclose high frequency adrenocorticotropin release episodes in normal men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 71(5), 1276–1283. <http://doi.org/10.1210/jcem-71-5-1276>
- Ivanova, T. eta Beyer, C. (2001). Pre- and postnatal expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA/protein and tyrosine protein kinase receptor B mRNA in the mouse hippocampus. *Neuroscience Letters*, 307(1), 21–24.
- Izzo, E., Sanna, P. P. eta Koob, G. F. (2005). Impairment of dopaminergic system function after chronic treatment with corticotropin-releasing factor. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 81(4), 701–708. <http://doi.org/10.1016/J.PBB.2005.04.017>
- Jackson, H. C., Needham, A. M., Hutchins, L. J., Mazurkiewicz, S. E. eta Heal, D. J. (1997). Comparison of the effects of sibutramine and other monoamine reuptake inhibitors on food intake in the rat. *British Journal of Pharmacology*, 121(8), 1758–1762. <http://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701312>
- Jacobson-Pick, S., Audet, M. C., McQuaid, R. J., Kalvapalle, R. eta Anisman, H. (2013). Social agonistic distress in male and female mice: changes of behavior and brain monoamine functioning in relation to acute and chronic challenges. *PloS One*, 8(4), e60133.

<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0060133>

Jarcho, M. R., Massner, K. J., Eggert, A. R. eta Wichelt, E. L. (2016). Behavioral and physiological response to onset and termination of social instability in female mice. *Hormones and Behavior*, 78, 135–140. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.11.004>

Jentsch, M. C., Van Buel, E. M., Bosker, F. J., Gladkevich, A. V, Klein, H. C., Oude Voshaar, R. C., ... Schoevers, R. A. (2015). Biomarker approaches in major depressive disorder evaluated in the context of current hypotheses. *Biomarkers in Medicine*, 9(3), 277–297. <http://doi.org/10.2217/bmm.14.114>

Ji, W. W., Wang, S. Y., Ma, Z. Q., Li, R. P., Li, S. S., Xue, J. S., ... Ma, S. P. (2014). Effects of perillaldehyde on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 116(4), 1–8. <http://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.10.026>

Joëls, M. eta Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 459–466. <http://doi.org/10.1038/nrn2632>

Kaiser, S., Kruijver, F. P. ., Swaab, D. F. eta Sachser, N. (2003). Early social stress in female guinea pigs induces a masculinization of adult behavior and corresponding changes in brain and neuroendocrine function. *Behavioural Brain Research*, 144(1–2), 199–210. [http://doi.org/10.1016/S0166-4328\(03\)00077-9](http://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00077-9)

Kalueff, A. V, Minasyan, A., Keisala, T., Shah, Z. H. eta Tuohimaa, P. (2006). Hair *barbering* in mice: implications for neurobehavioural research. *Behavioural Processes*, 71(1), 8–15. <http://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.09.004>

Kanai, M., Funakoshi, H., Takahashi, H., Hayakawa, T., Mizuno, S., Matsumoto, K. eta Nakamura, T. (2009). Tryptophan 2,3-dioxygenase is a key modulator of physiological neurogenesis and anxiety-related

- behavior in mice. *Molecular Brain*, 2(1), 8.
<http://doi.org/10.1186/1756-6606-2-8>
- Kanayama, G., Amiaz, R., Seidman, S. eta Pope Jr, H. G. (2007). Testosterone supplementation for depressed men: current research and suggested treatment guidelines. *Experimental and clinical psychopharmacology*, 15(6), 529.
- Kara, S., Yazici, K. M., Güleç, C. eta Ünsal, I. (2000). Mixed anxiety-depressive disorder and major depressive disorder: Comparison of the severity of illness and biological variables. *Psychiatry Research*, 94(1), 59–66. [http://doi.org/10.1016/S0165-1781\(00\)00131-1](http://doi.org/10.1016/S0165-1781(00)00131-1)
- Kaufman, J., Sullivan, G. M., Yang, J., Ogden, R. T., Miller, J. M., Oquendo, M. A., ... DeLorenzo, C. (2015). Quantification of the Serotonin 1A Receptor Using PET: Identification of a Potential Biomarker of Major Depression in Males. *Neuropsychopharmacology*, 40(7), 1692–1699. <http://doi.org/10.1038/npp.2015.15>
- Keeney, A., Jessop, D. S., Harbuz, M. S., Marsden, C. A., Hogg, S. eta Blackburn-Munro, R. E. (2006). Differential effects of acute and chronic social defeat stress on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and hippocampal serotonin release in mice. *Journal of Neuroendocrinology*, 18(5), 330–338. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2006.01422.x>
- Kelley, K. W., Bluthé, R.-M., Dantzer, R., Zhou, J.-H., Shen, W.-H., Johnson, R. W. eta Broussard, S. R. (2003). Cytokine-induced sickness behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, 17(1), 112-118.
- Kemeny, M. E. eta Laudenslager, M. L. (1999). Introduction beyond stress: the role of individual difference factors in psychoneuroimmunology. *Brain, Behavior, and Immunity*, 13(2), 73–75. <http://doi.org/10.1006/brbi.1999.0562>
- Kendler, K. S., Hettema, J. M., Butera, F., Gardner, C. O. eta Prescott, C. A. (2003). Life Event Dimensions of Loss, Humiliation, Entrapment, and

BIBLIOGRAFIA

- Danger in the Prediction of Onsets of Major Depression and Generalized Anxiety. *Archives of General Psychiatry*, 60(8), 789. <http://doi.org/10.1001/archpsyc.60.8.789>
- Kenis, G. eta Maes, M. (2002). Effects of antidepressants on the production of cytokines. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 5(4), 401–412. <http://doi.org/10.1017/S1461145702003164>
- Kessler, R. C. (1997). The effects of stressful life events on depression. *Annual Review of Psychology*, 48, 191–214. <http://doi.org/10.1146/annurev.psych.48.1.191>
- Kessler, R. C., Gruber, M., Hettema, J. M., Hwang, I., Sampson, N. eta Yonkers, K. A. (2008). Co-morbid major depression and generalized anxiety disorders in the National Comorbidity Survey follow-up. *Psychological Medicine*, 38(3), 365–374. <http://doi.org/10.1017/S0033291707002012>
- Kessler, R. C., McGonagle, K. A., Swartz, M., Blazer, D. G. eta Nelson, C. B. (1993). Sex and depression in the National Comorbidity Survey I: Lifetime prevalence, chronicity and recurrence. *Journal of Affective Disorders*, 29(2–3), 85–96. [http://doi.org/10.1016/0165-0327\(93\)90026-G](http://doi.org/10.1016/0165-0327(93)90026-G)
- Kiecolt-Glaser, J. K., Preacher, K. J., MacCallum, R. C., Atkinson, C., Malarkey, W. B. eta Glaser, R. (2003). Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(15), 9090–9095. <http://doi.org/10.1073/pnas.1531903100>
- Kim, Y. K., Na, K. S., Shin, K. H., Jung, H. Y., Choi, S. H. eta Kim, J. B. (2007). Cytokine imbalance in the pathophysiology of major depressive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(5), 1044–1053. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.03.004>

- Kirby, E. D., Muroy, S. E., Sun, W. G., Covarrubias, D., Leong, M. J., Barchas, L. A. eta Kaufer, D. (2013). Acute stress enhances adult rat hippocampal neurogenesis and activation of newborn neurons via secreted astrocytic FGF2. *eLife*, 2, e00362. <http://doi.org/10.7554/eLife.00362>
- Kitagami, T., Yamada, K., Miura, H., Hashimoto, R., Nabeshima, T. eta Ohta, T. (2003). Mechanism of systemically injected interferon-alpha impeding monoamine biosynthesis in rats: Role of nitric oxide as a signal crossing the blood-brain barrier. *Brain Research*, 978(1-2), 104-114.
- Klein, S. L. (2000). The effects of hormones on sex differences in infection: From genes to behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(6), 627-638.
- Köhler-Forsberg, O., Buttenschön, H. N., Tansey, K. E., Maier, W., Hauser, J., Dernovsek, M. Z., ... McGuffin, P. (2017). Association between C-reactive protein (CRP) with depression symptom severity and specific depressive symptoms in major depression. *Brain, behavior, and immunity*, 62, 344-350. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.02.020>
- Kokras, N. eta Dalla, C. (2014). *Sex Differences in Animal Models of Psychiatric Disorders*. *British journal of pharmacology*. <http://doi.org/10.1111/bph.12710>
- Kokras, N. eta Dalla, C. (2017). Preclinical sex differences in depression and antidepressant response: Implications for clinical research. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1-2), 731-736. <http://doi.org/10.1002/jnr.23861>
- Kolbe, T., Palme, R., Tichy, A. eta Rüllicke, T. (2015). Lifetime dependent variation of stress hormone metabolites in feces of two laboratory mouse strains. *PLoS ONE*, 10(8), 1-11. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0136112>
- Koo, J. W. eta Duman, R. S. (2008). IL-1beta is an essential mediator of the

BIBLIOGRAFIA

- antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(2), 751–756.
- Koob, G. F. (1999). Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. *Biological Psychiatry*, 46(9), 1167–1180.
- Kornstein, S. G. (1997). Gender differences in depression: implications for treatment. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 58(1), 12–18.
- Kovacs, E. J., Messingham, K. A. N. eta Gregory, M. S. (2002). Estrogen regulation of immune responses after injury. In *Molecular and Cellular Endocrinology*, 193, 129–135.
- Kreiner, G., Chmielarz, P., Roman, A. eta Nalepa, I. (2013). Gender differences in genetic mouse models evaluated for depressive-like and antidepressant behavior. *Pharmacological Reports*, 65(6), 1580–90. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(13\)71519-6](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(13)71519-6)
- Kreinin, A., Lisson, S., Neshet, E., Schneider, J., Bergman, J., Farhat, K., ... Pinhasov, A. (2015). Blood BDNF level is gender specific in severe depression. *PLoS One*, 10(5), e0127643. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0127643>
- Krishnan, V. eta Nestler, E. J. (2008). The molecular neurobiology of depression. *Nature*, 455(7215), 894–902. <http://doi.org/10.1038/nature07455>
- Kronfol, Z. eta Remick, D. G. (2000). Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *American Journal of Psychiatry*, 157(5), 683–694.
- Kubera, M., Kenis, G., Bosmans, E., Kajta, M., Basta-Kaim, A., Scharpe, S., ... eta Maes, M. (2004). Stimulatory effect of antidepressants on the production of IL-6. *International Immunopharmacology*, 4(2), 185–192. <http://doi.org/10.1016/j.intimp.2003.11.006>

- Kubera, M., Lin, A. H., Kenis, G., Bosmans, E., van Bockstaele, D. eta Maes, M. (2001). Anti-inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon-gamma/interleukin-10 production ratio. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, *21*(2), 199–206.
- Kubota, Y., Goto, T., Hagiya, Y., Chohnan, S. eta Toyoda, A. (2016). Decreased hepatic contents of coenzyme A molecular species in mice after subchronic mild social defeat stress. *Stress*, *19*(2), 192–197. <http://doi.org/10.3109/10253890.2015.1137558>
- Kudielka, B. M. eta Kirschbaum, C. (2005). Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. *Biological psychology*, *69*(1), 113-132. <http://doi:10.1016/j.biopsycho.2004.11.009>
- Kudryavtseva, N. N., Bakshantovskaya, I. V. eta Koryakina, L. A. (1991). Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *38*(2), 315–320. [http://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90284-9](http://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90284-9)
- Kumar, A., Garg, R., Gaur, V. eta Kumar, P. (2010). Venlafaxine involves nitric oxide modulatory mechanism in experimental model of chronic behavior despair in mice. *Brain research*, *1311*, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.11.050>
- Lacasse, J. R. eta Leo, J. (2005). Serotonin and depression: a disconnect between the advertisements and the scientific literature. *PLoS Medicine*, *2*(12), e392. <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020392>
- Lai, M., McCormick, J. A., Chapman, K. E., Kelly, P. A. T., Seckl, J. R. eta Yau, J. L. W. (2003). Differential regulation of corticosteroid receptors by monoamine neurotransmitters and antidepressant drugs in primary hippocampal culture. *Neuroscience*, *118*(4), 975–984.
- Layé, S., Parnet, P., Goujon, E. eta Dantzer, R. (1994). Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice. *Brain*

BIBLIOGRAFIA

- Research. Molecular Brain Research*, 27(1), 157–162.
[http://doi.org/10.1016/0169-328X\(94\)90197-X](http://doi.org/10.1016/0169-328X(94)90197-X)
- Leonard, B. E. (2001). The immune system, depression and the action of antidepressants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 25(4), 767-780. [http://doi.org/10.1016/S0278-5846\(01\)00155-5](http://doi.org/10.1016/S0278-5846(01)00155-5)
- Levine, S. (2005). Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. *Psychoneuroendocrinology*, 30(10), 939–946. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.03.013>
- Levinstein, M. R. et al. Samuels, B. A. (2014). Mechanisms underlying the antidepressant response and treatment resistance. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8, 208. <http://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00208>
- Li, S., Wang, C., Wang, W., Dong, H., Hou, P. et al. Tang, Y. (2008). Chronic mild stress impairs cognition in mice: From brain homeostasis to behavior. *Life Sciences*, 82(17–18), 934–942.
- Liu, B., Liu, J., Wang, M., Zhang, Y. et al. Li, L. (2017). From Serotonin to Neuroplasticity: Evolvement of Theories for Major Depressive Disorder. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 1–9. <http://doi.org/10.3389/fncel.2017.00305>
- Liu, Y., Ho, R. C.-M. et al. Mak, A. (2012). Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- α) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Affective Disorders*, 139(3), 230–239. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2011.08.003>
- Loram, L. C., Sholar, P. W., Taylor, F. R., Wiesler, J. L., Babb, J. A., Strand, K. A., ... Watkins, L. R. (2012). Sex and estradiol influence glial pro-inflammatory responses to lipopolysaccharide in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 37(10), 1688–1699. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.02.018>

- Lubbers, L. S., Zafian, P. T., Gautreaux, C., Gordon, M., Alves, S. E., Correa, L., ... Luine, V. (2010). Estrogen receptor (ER) subtype agonists alter monoamine levels in the female rat brain. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 122(5), 310–317. <http://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.08.005>
- Lucassen, P. J., Vollmann-Honsdorf, G. K., Gleisberg, M., Czeh, B., De Kloet, E. R. eta Fuchs, E. (2001). Chronic psychosocial stress differentially affects apoptosis in hippocampal subregions and cortex of the adult tree shrew. *The European Journal of Neuroscience*, 14(1), 161–166.
- Luppino, F. S., de Wit, L. M., Bouvy, P. F., Stijnen, T., Cuijpers, P., Penninx, B. W. J. H. eta Zitman, F. G. (2010). Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Archives of General Psychiatry*, 67(3), 220–229. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.2>
- Lutfy, K., Aimiwu, O., Mangubat, M., Shin, C.-S., Nerio, N., Gomez, R., ... Friedman, T. C. (2012). Nicotine stimulates secretion of corticosterone via both CRH and AVP receptors. *Journal of Neurochemistry*, 120(6), 1108-1116. <http://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07633.x>
- Maes, M., Yirmiya, R., Noraberg, J., Brene, S., Hibbeln, J., Perini, G., ... Maj, M. (2009). The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: Leads for future research and new drug developments in depression. *Metabolic Brain Disease*, 24(1), 27-53. <http://doi.org/10.1007/s11011-008-9118-1>
- Malikowska, N., Fijałkowski, Ł., Nowaczyk, A., Popik, P. eta Sałat, K. (2017). Antidepressant-like activity of venlafaxine and clonidine in mice exposed to single prolonged stress—A model of post-traumatic stress disorder. *Brain research*, 1673, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.08.001>
- Mandl, A. (1951). The phases of the oestrous cycle in the adult white rat. *Journal of Experimental Biology*, 28, 576–584.

BIBLIOGRAFIA

- Marcondes, F. K., Bianchi, F. J. eta Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4a), 609–614. <http://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400008>
- Marcus, S. M., Kerber, K. B., Rush, A. J., Wisniewski, S. R., Nierenberg, A., Balasubramani, G. K., ... Trivedi, M. H. (2008). Sex differences in depression symptoms in treatment-seeking adults: confirmatory analyses from the Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression study. *Comprehensive Psychiatry*, 49(3), 238–246. <http://doi.org/10.1016/j.comppsy.2007.06.012>
- Marcus, S. M., Young, E. A., Kerber, K. B., Kornstein, S., Farabaugh, A. H., Mitchell, J., ... Rush, A. J. (2005). Gender differences in depression: findings from the STAR*D study. *Journal of Affective Disorders*, 87(2–3), 141–150. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2004.09.008>
- Martin, A. L. eta Brown, R. E. (2010). The lonely mouse: verification of a separation-induced model of depression in female mice. *Behavioural brain research*, 207(1), 196–207. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.10.006>
- Matheson, F. I., Moineddin, R., Dunn, J. R., Creatore, M. I., Gozdyra, P. eta Glazier, R. H. (2006). Urban neighborhoods, chronic stress, gender and depression. *Social Science and Medicine*, 63(10), 2604–2616.
- McClelland, E. E. eta Smith, J. M. (2011). Gender specific differences in the immune response to infection. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 59(3), 203–213. <http://doi.org/10.1007/s00005-011-0124-3>
- McCombe, P. A., Greer, J. M. eta Mackay, I. R. (2009). Sexual dimorphism in autoimmune disease. *Current Molecular Medicine*, 9(9), 1058–1079. <http://doi.org/10.2174/156652409789839116>
- McCormick, C. M. eta Green, M. R. (2013). From the stressed adolescent to the anxious and depressed adult: Investigations in rodent models.

- Neuroscience*, 249, 242–257.
<http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.08.063>
- McCormick, C. M., Merrick, A., Secen, J. eta Helmreich, D. L. (2007). Social instability in adolescence alters the central and peripheral hypothalamic-pituitary-adrenal responses to a repeated homotypic stressor in male and female rats. *Journal of neuroendocrinology*, 19(2), 116-126. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2006.01515.x>
- McCoy, S. J., Beal, J. M., Saunders, B., Hill, E. N., Payton, M. E. eta Watson, G. H. (2008). Risk factors for postpartum depression: a retrospective investigation. *The Journal of reproductive medicine*, 53(3), 166-170.
- McEwen, B. S. (1998). Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 840, 33–44. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09546.x>
- McEwen, B. S. (2004). Protection and Damage from Acute and Chronic Stress Allostasis and Allostatic Overload and Relevance to the Pathophysiology of Psychiatric Disorders, 7, 1–7. <http://doi.org/10.1196/annals.1314.001>
- McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological Reviews*, 87(3), 873–904. <http://doi.org/87/3/873> [pii] 10.1152/physrev.00041.2006
- McEwen, B. S. (2008). Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *European Journal of Pharmacology*, 583(2-3), 174-185. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.11.071>
- McGeer, P. L. eta McGeer, E. G. (1995). The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Research Reviews*, 21(2), 195–218. [http://doi.org/10.1016/0165-0173\(95\)00011-9](http://doi.org/10.1016/0165-0173(95)00011-9)

BIBLIOGRAFIA

- McHenry, J., Carrier, N., Hull, E. eta Kabbaj, M. (2014). Sex differences in anxiety and depression: role of testosterone. *Frontiers in neuroendocrinology*, 35(1), 42-57. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.09.001>
- Mendez-David, I., Guilloux, J. P., Papp, M., Tritschler, L., Mocaer, E., Gardier, A. M., ... David, D. J. (2017). S 47445 produces antidepressant- and anxiolytic-like effects through neurogenesis dependent and independent mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 462. <http://doi.org/10.3389/fphar.2017.00462>
- Merali, Z., Brennan, K., Brau, P. eta Anisman, H. (2003). Dissociating anorexia and anhedonia elicited by interleukin-1 β : antidepressant and gender effects on responding for "free chow" and "earned" sucrose intake. *Psychopharmacology*, 165(4), 413–418. <http://doi.org/10.1007/s00213-002-1273-1>
- Mesquita, A. R., Correia-Neves, M., Roque, S., Castro, A. G., Vieira, P., Pedrosa, J., ... Sousa, N. (2008). IL-10 modulates depressive-like behavior. *Journal of Psychiatric Research*, 43(2), 89–97. <http://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2008.02.004>
- Miczek, K. A. (1979). A new test for aggression in rats without aversive stimulation: differential effects of d-amphetamine and cocaine. *Psychopharmacology*, 60(3), 253–259.
- Miller, A. H., Maletic, V. eta Raison, C. L. (2009). Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biological Psychiatry*, 65(9), 732–741. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.11.029>
- Miller, A. H. eta Raison, C. L. (2016). The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nature Reviews Immunology*, 16(1), 22–34. <http://doi.org/10.1038/nri.2015.5>
- Miller, C. L., Llenos, I. C., Dulay, J. R., Barillo, M. M., Yolken, R. H. eta Weis,

- S. (2004). Expression of the kynurenine pathway enzyme tryptophan 2,3-dioxygenase is increased in the frontal cortex of individuals with schizophrenia. *Neurobiology of Disease*, 15(3), 618–629. <http://doi.org/10.1016/j.nbd.2003.12.015>
- Mirza, M. A., Ritzel, R., Xu, Y., McCullough, L. D. eta Liu, F. (2015). Sexually dimorphic outcomes and inflammatory responses in hypoxic-ischemic encephalopathy. *Journal of Neuroinflammation*, 12, 32. <http://doi.org/10.1186/s12974-015-0251-6>
- Monroe, S. M. eta Harkness, K. L. (2005). Life Stress, the "Kindling" Hypothesis, and the Recurrence of Depression: Considerations From a Life Stress Perspective. *Psychological Review*, 112(2), 417–445. <http://doi.org/10.1037/0033-295X.112.2.417>
- Monteggia, L. M., Barrot, M., Powell, C. M., Berton, O., Galanis, V., Gemelli, T., ... Nestler, E. J. (2004). Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(29), 10827–10832. <http://doi.org/10.1073/pnas.0402141101>
- Monteleone, P., Serritella, C., Martiadis, V. eta Maj, M. (2008). Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in both depressed and euthymic patients with unipolar depression and in euthymic patients with bipolar I and II disorders. *Bipolar Disorders*, 10(1), 95–100. <http://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2008.00459.x>
- Mulinari, S. (2012). Monoamine Theories of Depression: Historical Impact on Biomedical Research. *Journal of the History of the Neurosciences*, 21(4), 366–392. <http://doi.org/10.1080/0964704X.2011.623917>
- Müller, N., Schwarz, M. J., Muller, N. eta Schwarz, M. J. (2008). COX-2 inhibition in schizophrenia and major depression. *Current Pharmaceutical Design*, 14(14), 1452–1465. <http://doi.org/10.2174/138161208784480243>

BIBLIOGRAFIA

- Muneoka, K., Shirayama, Y., Takigawa, M. eta Shioda, S. (2009). Brain Region-Specific Effects of Short-Term Treatment with Duloxetine, Venlafaxine, Milnacipran and Sertraline on Monoamine Metabolism in Rats. *Neurochemical Research*, 34(3), 542–555. <http://doi.org/10.1007/s11064-008-9818-2>
- Munzer, A., Sack, U., Mergl, R., Schönherr, J., Petersein, C., Bartsch, S., ... Himmerich, H. (2013). Impact of Antidepressants on Cytokine Production of Depressed Patients in Vitro. *Toxins*, 5(12), 2227–2240. <http://doi.org/10.3390/toxins5112227>
- Murphy, D. D., Cole, N. B. eta Segal, M. (1998). Brain-derived neurotrophic factor mediates estradiol-induced dendritic spine formation in hippocampal neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(19), 11412–7.
- Nader, N., Chrousos, G. P. eta Kino, T. (2009). Circadian rhythm transcription factor CLOCK regulates the transcriptional activity of the glucocorticoid receptor by acetylating its hinge region lysine cluster: potential physiological implications. *The FASEB Journal*, 23(5), 1572–1583. <http://doi.org/10.1096/fj.08-117697>
- Nemeth, C. L., Reddy, R., Bekhbat, M., Bailey, J. eta Neigh, G. N. (2014). Microglial activation occurs in the absence of anxiety-like behavior following microembolic stroke in female, but not male, rats. *Journal of Neuroinflammation*, 11, 174. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0174-7>.
- Nemeroff, C. B., Entsuah, R., Benattia, I., Demitrack, M., Sloan, D. M. eta Thase, M. E. (2008). Comprehensive analysis of remission (COMPARE) with venlafaxine versus SSRIs. *Biological psychiatry*, 63(4), 424-434. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.06.027>
- Nestler, E. J., Barrot, M., DiLeone, R. J., Eisch, A. J., Gold, S. J. eta Monteggia, L. M. (2002). Neurobiology of depression. *Neuron*, 34(1), 13-25. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00653-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00653-0)

- Neurauter, G., Schröcksnadel, K., Scholl-Bürgi, S., Sperner-Unterweger, B., Schubert, C., Ledochowski, M. eta Fuchs, D. (2008). Chronic immune stimulation correlates with reduced phenylalanine turnover. *Current Drug Metabolism*, 9(7), 622–627. <http://doi.org/10.2174/138920008785821738>
- Nolen-Hoeksema, S. (2001). Gender differences in depression. *Current directions in psychological science*, 10(5), 173–176. <http://doi.org/10.3109/09540261.2010.492391>
- Nowacka, M. M., Paul-Samojedny, M., Bielecka, A. M. eta Obuchowicz, E. (2014). Chronic social instability stress enhances vulnerability of BDNF response to LPS in the limbic structures of female rats: a protective role of antidepressants. *Neuroscience Research*, 88, 74–83. <http://doi.org/10.1016/j.neures.2014.08.008>
- Nowacka, M. M., Paul-Samojedny, M., Bielecka, A. M., Plewka, D., Czekaj, P. eta Obuchowicz, E. (2015). LPS reduces BDNF and VEGF expression in the structures of the HPA axis of chronic social stressed female rats. *Neuropeptides*, 54, 17–27. <http://doi.org/10.1016/j.npep.2015.09.003>
- Nunn, C. L., Lindenfors, P., Pursall, E. R. eta Rolff, J. (2009). On sexual dimorphism in immune function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1513), 61–69. <http://doi.org/10.1098/rstb.2008.0148>
- O'Connor, J. C., Lawson, M. A., André, C., Moreau, M., Lestage, J., Castanon, N., ... Dantzer, R. (2009). Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Molecular Psychiatry*, 14(5), 511–522. <http://doi:10.1038/sj.mp.4002148>
- O'Farrell, K. eta Harkin, A. (2017). Stress-related regulation of the kynurenine pathway: Relevance to neuropsychiatric and degenerative disorders. *Neuropharmacology*, 112(B), 307–323. <http://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.12.004>

BIBLIOGRAFIA

- Olf, M., Langeland, W. eta Gersons, B. P. (2005). Effects of appraisal and coping on the neuroendocrine response to extreme stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(3), 457-467. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.12.006>
- O'Neil, M. F. eta Moore, N. A. (2003). Animal models of depression: are there any? *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 18(4), 239–254. <http://doi.org/10.1002/hup.496>
- Okugawa, G., Omori, K., Suzukawa, J., Fujiseki, Y., Kinoshita, T. eta Inagaki, C. (1999). Long-term treatment with antidepressants increases glucocorticoid receptor binding and gene expression in cultured rat hippocampal neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, 11(11), 887–95.
- Oxenkrug, G. F. (2010). Tryptophan kynurenine metabolism as a common mediator of genetic and environmental impacts in major depressive disorder: the serotonin hypothesis revisited 40 years later. *The Israel Journal of Psychiatry and Related Sciences*, 47(1), 56–63.
- Oxenkrug, G. F. (2011). Interferon-gamma - Inducible Inflammation: Contribution to Aging and Aging-Associated Psychiatric Disorders. *Aging and Disease*, 2(6), 474–86.
- Oxenkrug, G. F. eta Gershon, S. (1987). Cognitive Function and Brain-Adrenal Axis Activity in Aging, Depression and Dementia. In *Alzheimer's Disease* (pp. 59–66). Boston, MA: Springer US. http://doi.org/10.1007/978-1-4615-6414-0_5
- Palanza, P. (2001). Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25(3), 219–233. [http://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00010-0](http://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00010-0)
- Palanza, P. eta Parmigiani, S. (2017). How does sex matter? Behavior, stress and animal models of neurobehavioral disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 76, 134–143. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.037>

- Pan, Y., Lin, W., Wang, W., Qi, X., Wang, D. eta Tang, M. (2013). The effects of central pro-and anti-inflammatory immune challenges on depressive-like behavior induced by chronic forced swim stress in rats. *Behavioural Brain Research*, 247, 232–240. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.03.031>
- Panteleeva, G. P., Oleichik, I. V., Abramova, L. I. eta Yumatova, P. E. (2016). Treatment of endogenous depression with venlafaxine: clinical action, tolerance, and personalized indications for prescription. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 46(6), 665-672. <http://doi.org/10.1007/s11055-016-0294-x>
- Pang, P. T., Teng, H. K., Zaitsev, E., Woo, N. T., Sakata, K., Zhen, S., ... Lu, B. (2004). Cleavage of proBDNF by tPA/Plasmin Is Essential for Long-Term Hippocampal Plasticity. *Science*, 306(5695), 487–491. <http://doi.org/10.1126/science.1100135>
- Pariante, C. M. (2004). Glucocorticoid Receptor Function *In Vitro* in Patients with Major Depression. *Stress*, 7(4), 209–219. <http://doi.org/10.1080/10253890500069650>
- Pariante, C. M. (2006). The glucocorticoid receptor: part of the solution or part of the problem? *Journal of Psychopharmacology*, 20(4), 79–84. <http://doi.org/10.1177/1359786806066063>
- Parker, K. J., Schatzberg, A. F. eta Lyons, D. M. (2003). Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. *Hormones and Behavior*, 43(1), 60–66. [http://doi.org/10.1016/S0018-506X\(02\)00016-8](http://doi.org/10.1016/S0018-506X(02)00016-8)
- Patat, A., Troy, S., Burke, J., Trocherie, S., Danjou, P., Coz, F. L., ... Gandon, J. M. (1998). Absolute Bioavailability and Electroencephalographic Effects of Conventional and Extended-Release Formulations of Venlafaxine in Healthy Subjects. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 38(3), 256-267. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1998.tb04423.x>

BIBLIOGRAFIA

- Patten, S. B. (1999). Depressive symptoms and disorders, levels of functioning and psychosocial stress: an integrative hypothesis. *Medical Hypotheses*, 53(3), 210–216. <http://doi.org/10.1054/mehy.1998.0747>
- Paxinos, G. eta Franklin, K. B. (2004). *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Gulf professional publishing. [http://doi.org/10.1016/S0306-4530\(03\)00088-X](http://doi.org/10.1016/S0306-4530(03)00088-X)
- Pearlin, L. I., Schieman, S., Fazio, E. M. eta Meersman, S. C. (2005). Stress, health, and the life course: some conceptual perspectives. *Journal of Health and Social Behavior*, 46(2), 205–219. <http://doi.org/10.1177/002214650504600206>
- Pérez-Tejada, J., Arregi, A., Gómez-Lázaro, E., Vegas, O., Azpiroz, A. eta Garmendia, L. (2013). Coping with chronic social stress in mice: hypothalamic-pituitary-adrenal/sympathetic-adrenal-medullary axis activity, behavioral changes and effects of antalarmin treatment: implications for the study of stress-related psychopathologies. *Neuroendocrinology*, 98(1), 73–88. <https://doi.org/10.1159/000353620>
- Pérez-Tejada, J, Arregi, A., Azpiroz, A., Beitia, G., Gómez-Lázaro, E. eta Garmendia, L. (2016). Central immune alterations in passive strategy following chronic defeat stress. *Behavioural Brain Research*, 298, 291–300. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.11.015>
- Piccinni, A., Marazziti, D., Catena, M., Domenici, L., Del Debbio, A., Bianchi, C., ... Dell’Osso, L. (2008). Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments. *Journal of Affective Disorders*, 105(1), 279–283. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2007.05.005>
- Pinos, H., Collado, P., Rodríguez-Zafra, M., Rodríguez, C., Segovia, S. eta Guillamón, A. (2001). The development of sex differences in the *locus coeruleus* of the rat. *Brain Research Bulletin*, 56(1), 73–78. [http://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00540-8](http://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00540-8)

- Pitychoutis, P. M. eta Papadopoulou-Daifoti, Z. (2010). Of depression and immunity: does sex matter? *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 13(5), 675–89. <http://doi.org/10.1017/S1461145710000465>
- Porsolt, R. D., Bertin, A. eta Jalfre, M. (1977). Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 229(2), 327–36.
- Prange-Kiel, J., Fester, L., Zhou, L., Jarry, H. eta Rune, G. M. (2009). Estrus cyclicity of spinogenesis: Underlying mechanisms. *Journal of Neural Transmission*, 116(11), 1417–1425. <http://doi.org/10.1007/s00702-009-0294-x>
- Pratt, W. B. (1990). Glucocorticoid receptor structure and the initial events in signal transduction. *Progress in Clinical and Biological Research*, 322, 119–32.
- Prchal, A., Albarracin, A. L. eta Decima, E. E. (2004). Blockage of vibrissae afferents: I. Motor effects. *Archives Italiennes de Biologie*, 142(1), 11–23. <http://doi.org/10.7554/eLife.21843>
- Prendergast, B. J., Onishi, K. G. eta Zucker, I. (2014). Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 40, 1–5. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.001>
- Price, J., Sloman, L., Gardner, R., Gilbert, P. eta Rohde, P. (1994). The social competition hypothesis of depression. *British Journal of Psychiatry*, 164, 309–315. <http://doi.org/10.1192/bjp.164.3.309>
- Prigg, T., Goldreich, D., Carvell, G. E. eta Simons, D. J. (2002). Texture discrimination and unit recordings in the rat whisker/barrel system. *Physiology & Behavior*, 77(4–5), 671–675. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(02\)00917-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(02)00917-4)
- Pyter, L. M., Kelly, S. D., Harrell, C. S. eta Neigh, G. N. (2013). Sex differences in the effects of adolescent stress on adult brain

BIBLIOGRAFIA

- inflammatory markers in rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 30, 88–94. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.01.075>
- Raadsheer, F. C., van Heerikhuize, J. J., Lucassen, P. J., Hoogendijk, W. J., Tilders, F. J. eta Swaab, D. F. (1995). Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in the paraventricular nucleus of patients with Alzheimer's disease and depression. *American Journal of Psychiatry*, 152(9), 1372–1376. <http://doi.org/10.1176/ajp.152.9.1372>
- Racagni, G. eta Popoli, M. (2008). Cellular and molecular mechanisms in the long-term action of antidepressants. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 10(4), 385–400.
- Raison, C. L., Capuron, L. eta Miller, A. H. (2006). Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends in Immunology*, 27(1), 24–31. <http://doi.org/10.1016/j.it.2005.11.006>
- Raison, C. L., Dantzer, R., Kelley, K. W., Lawson, M. A., Woolwine, B. J., Vogt, G., ... Miller, A. H. (2010). CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN-alpha: relationship to CNS immune responses and depression. *Mol Psychiatry*, 15(4), 393-403. <http://doi.org/10.1038/mp.2009.116>
- Raison, C. L. eta Miller, A. H. (2003). When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *The American Journal of Psychiatry*, 160(9), 1554–1565. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.9.1554>
- Raison, C. L. eta Miller, A. H. (2013). Malaise, melancholia and madness: the evolutionary legacy of an inflammatory bias. *Brain, Behavior, and Immunity*, 31, 1–8. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.04.009>
- Raitsin, S., Tong, J., Kish, S., Xu, X., Magomedova, L., Cummins, C., ... Meyer, J. H. (2017). Subchronic glucocorticoids, glutathione depletion and a postpartum model elevate monoamine oxidase a activity in the prefrontal cortex of rats. *Brain Research*, 1666, 1–10. <http://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.03.032>

- Ratka, A., Sutanto, W., Bloemers, M. eta de Kloet, E. R. (1989). On the role of brain mineralocorticoid (type I) and glucocorticoid (type II) receptors in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*, 50(2), 117–123.
- Reichardt, H. M., Umland, T., Bauer, A., Kretz, O. eta Schütz, G. (2000). Mice with an increased glucocorticoid receptor gene dosage show enhanced resistance to stress and endotoxic shock. *Molecular and Cellular Biology*, 20(23), 9009–9017. <http://doi.org/10.1128/MCB.20.23.9009-9017.2000>
- Reinhardt, V. (2005). Hair pulling: a review. *Laboratory Animals*, 39(4), 361–369. <http://doi.org/10.1258/002367705774286448>
- Reinhart, V., Bove, S. E., Volfson, D., Lewis, D. A., Kleiman, R. J. eta Lanz, T. A. (2015). Evaluation of TrkB and BDNF transcripts in prefrontal cortex, hippocampus, and striatum from subjects with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Neurobiology of Disease*, 77, 220–227. <http://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.03.011>
- Ressler, K. J. eta Nemeroff, C. B. (2000). Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. *Depression and Anxiety*, 12(1), 2–19. [http://doi.org/10.1002/1520-6394\(2000\)12:1+<2::AID-DA2>3.0.CO;2-4](http://doi.org/10.1002/1520-6394(2000)12:1+<2::AID-DA2>3.0.CO;2-4)
- Reul, J. M. H. M. eta De Kloet, E. R. (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: Microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 117(6), 2505–2511. <http://doi.org/10.1210/endo-117-6-2505>
- Reul, J. M. H. M., Gesing, A., Droste, S., Stec, I. S. M., Weber, A., Bachmann, C., ... Linthorst, A. C. E. (2000). The brain mineralocorticoid receptor: Greedy for ligand, mysterious in function. *European Journal of Pharmacology*, 405(1-3), 235-249. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00677-4](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00677-4)

BIBLIOGRAFIA

- Ridder, S. (2005). Mice with Genetically Altered Glucocorticoid Receptor Expression Show Altered Sensitivity for Stress-Induced Depressive Reactions. *Journal of Neuroscience*, 25(26), 6243–6250. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0736-05.2005>
- Riecher-Rössler, A. (2010). Prospects for the classification of mental disorders in women. *European Psychiatry: The Journal of the Association of European Psychiatrists*, 25(4), 189–96. <http://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2009.03.002>
- Risch, N., Herrell, R., Lehner, T., Liang, K.-Y., Eaves, L., Hoh, J., ... Merikangas, K. R. (2009). Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta-analysis. *Jama*, 301(23), 2462–2471. <http://doi.org/10.1001/jama.2009.878>
- Rodgers, R. J., Cao, B.-J., Dalvi, A. eta Holmes, A. (1997). Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(3), 289–304. <http://doi.org/10.1590/S0100-879X1997000300002>
- Rodgers, R. J. eta Johnson, N. J. T. (1995). Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52(2), 297–303. [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)00138-M](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057(95)00138-M)
- Rohde, P. (2001). The relevance of hierarchies, territories, defeat for depression in humans: Hypotheses and clinical predictions. *Journal of Affective Disorders*, 65(3), 221–230. [http://doi.org/10.1016/S0165-0327\(00\)00219-6](http://doi.org/10.1016/S0165-0327(00)00219-6)
- Rohleder, N., Schommer, N. C., Hellhammer, D. H., Engel, R. eta Kirschbaum, C. (2001). Sex differences in glucocorticoid sensitivity of proinflammatory cytokine production after psychosocial stress. *Psychosomatic Medicine*, 63(6), 966–972. <http://doi.org/10.1097/00006842-200111000-00016>

- Rohr, U. D. (2002). The impact of testosterone imbalance on depression and women's health. *Maturitas*, 41, 25-46.
- Rood, L., Roelofs, J., Bogels, S. M., Nolen-Hoeksema, S. eta Schouten, E. (2009). The influence of emotion-focused rumination and distraction on depressive symptoms in non-clinical youth: a meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, 29(7), 607–616. <http://doi.org/10.1016/j.cpr.2009.07.001>
- Roque, S., Correia-Neves, M., Mesquita, A. R., Palha, J. A. eta Sousa, N. (2009). Interleukin-10: a key cytokine in depression? *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*, 2009, 187894. <http://doi.org/10.1155/2009/187894>
- Rush, A. J., Trivedi, M. H., Wisniewski, S. R., Ph, D., Nierenberg, A. A., Stewart, J. W., ... Fava, M. (2006). Acute and Longer-Term Outcomes in Depressed Outpatients Requiring One or Several Treatment Steps : *American Journal of Psychiatry*, 163, 1905–1917. <http://doi.org/10.1176/ajp.2006.163.11.1905>
- Rygula, R., Abumaria, N., Flügge, G., Fuchs, E., Rütger, E. eta Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress. *Behavioural Brain Research*, 162(1), 127–134.
- Saavedra-Rodríguez, L. eta Feig, L. A. (2013). Chronic social instability induces anxiety and defective social interactions across generations. *Biological Psychiatry*, 73(1), 44–53. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.06.035>
- Saltzman, W., Prudom, S. L., Schultz-Darken, N. J., Wittwer, D. J. eta Abbott, D. H. (2004). Social suppression of cortisol in female marmoset monkeys: Role of circulating ACTH levels and glucocorticoid negative feedback. *Psychoneuroendocrinology*, 29(2), 141–161.
- Sánchez-Andrade, G. eta Kendrick, K. M. (2011). Roles of α - and β -

BIBLIOGRAFIA

- estrogen receptors in mouse social recognition memory: Effects of gender and the estrous cycle. *Hormones and Behavior*, 59(1), 114–122. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.10.016>
- Sandín, B. (2003). El estrés : un análisis basado en el papel de los factores sociales. *Revista Internacional de Psicología Clínica Y de La Salud*, 3, 141-157.
- Sarna, J. (2000). The Dalila effect: C57BL6 mice barber whiskers by plucking. *Behavioural Brain Research*, 108(1), 39–45. [http://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00137-0](http://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00137-0)
- Schiepers, O. J. G., Wichers, M. C. eta Maes, M. (2005). Cytokines and major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(2), 201-217. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.11.003>
- Schmidt, F. M., Brugel, M., Kratzsch, J., Strauss, M., Sander, C., Baum, P., ... Schonknecht, P. (2010). Cerebrospinal fluid hypocretin-1 (orexin A) levels in mania compared to unipolar depression and healthy controls. *Neuroscience Letters*, 483(1), 20–22. <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.038>
- Schmidt, M. V, Scharf, S. H., Liebl, C., Harbich, D., Mayer, B., Holsboer, F. eta Müller, M. B. (2010). A novel chronic social stress paradigm in female mice. *Hormones and Behavior*, 57(4–5), 415–20. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.01.010>
- Schneider, C. P., Schwacha, M. G. eta Chaudry, I. H. (2007). Impact of sex and age on bone marrow immune responses in a murine model of trauma-hemorrhage. *Journal of Applied Physiology*, 102(1), 113–121. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00848.2006>
- Schuur, B. (1987). Social structure and plasma corticosterone level in female albino mice. *Physiology & behavior*, 40(6), 689-693. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(87\)90269-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(87)90269-1)
- Schultze-Florey, C. R., Martínez-Maza, O., Magpantay, L., Breen, E. C.,

- Irwin, M. R., Gündel, H. eta O'Connor, M.-F. (2012). When grief makes you sick: Bereavement induced systemic inflammation is a question of genotype. *Brain, Behavior, and Immunity*, 26(7), 1066–1071. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.06.009>
- Schwarcz, R. eta Pellicciari, R. (2002). Manipulation of brain kynurenines: glial targets, neuronal effects, and clinical opportunities. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 303(1), 1–10. <http://doi.org/10.1124/jpet.102.034439>
- Schwarz, J. M. eta Bilbo, S. D. (2012). Sex, glia, and development: interactions in health and disease. *Hormones and Behavior*, 62(3), 243–53. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.02.018>
- Seedat, S., Scott, K. M., Angermeyer, M. C., Berglund, P., Bromet, E. J., Brugha, T. S., ... Kessler, R. C. (2009). Cross-National Associations Between Gender and Mental Disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Archives of General Psychiatry*, 66(7), 785. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.36>
- Seidman, S. N., Spatz, E., Rizzo, C. eta Roose, S. P. (2001). Testosterone replacement therapy for hypogonadal men with major depressive disorder: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *The Journal of clinical psychiatry*, 62(6), 406-412. <http://dx.doi.org/10.4088/JCP.v62n0602>
- Selye, H. (1950). *The physiology and pathology of exposure to stress*. Acta Medical Publisher, Montreal, Canada.
- Shah, K., McCormack, C. E. eta Bradbury, N. A. (2014). Do you know the sex of your cells? *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 306(1), 3-18. <http://doi.org/10.1152/ajpcell.00281.2013>
- Shams, M. E. E., Arneth, B., Hiemke, C., Dragicevic, A., Müller, M. J., Kaiser, R. eta Härtter, S. (2006). CYP2D6 polymorphism and clinical effect of the antidepressant venlafaxine. *Journal of clinical pharmacy and*

BIBLIOGRAFIA

- therapeutics*, 31(5), 493-502. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2006.00763.x>
- Sharma, H. R. eta Thakur, M. K. (2015). Correlation of ER α /ER β expression with dendritic and behavioural changes in CUMS mice. *Physiology and Behavior*, 145, 71–83. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.03.041>
- Sharma, S., Yang, B., Xi, X., Grotta, J. C., Aronowski, J. eta Savitz, S. I. (2011). IL-10 directly protects cortical neurons by activating PI-3 kinase and STAT-3 pathways. *Brain Research*, 1373, 189–194. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2010.11.096>
- Shi, S.-S., Shao, S., Yuan, B., Pan, F. eta Li, Z.-L. (2010). Acute Stress and Chronic Stress Change Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Tyrosine Kinase-Coupled Receptor (TrkB) Expression in Both Young and Aged Rat Hippocampus. *Yonsei Medical Journal*, 51(5), 661. <http://doi.org/10.3349/ymj.2010.51.5.661>
- Shirayama, Y., Chen, A. C.-H., Nakagawa, S., Russell, D. S. eta Duman, R. S. (2002). Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *The Journal of Neuroscience*, 22(8), 3251–61. <http://doi.org/20026292>
- Simpson, J. eta Kelly, J. P. (2012). An investigation of whether there are sex differences in certain behavioural and neurochemical parameters in the rat. *Behavioural brain research*, 229(1), 289-300. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.036>
- Slattery, D. A. eta Cryan, J. F. (2017). Modelling depression in animals: at the interface of reward and stress pathways. *Psychopharmacology*, 234(9–10), 1451–1465. <http://doi.org/10.1007/s00213-017-4552-6>
- Slavich, G. M. eta Irwin, M. R. (2014). From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychological bulletin*, 140(3), 774. <http://dx.doi.org/10.1037/a0035302>

- Sloman, L., Gilbert, P. eta Hasey, G. (2003). Evolved mechanisms in depression: The role and interaction of attachment and social rank in depression. *Journal of Affective Disorders*, 74(2), 107–121. [http://doi.org/10.1016/S0165-0327\(02\)00116-7](http://doi.org/10.1016/S0165-0327(02)00116-7)
- Slopen, N., Kubzansky, L. D., McLaughlin, K. A. eta Koenen, K. C. (2013). Childhood adversity and inflammatory processes in youth: A prospective study. *Psychoneuroendocrinology*, 38(2), 188–200. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.05.013>
- Smith, D., Dempster, C., Glanville, J., Freemantle, N. eta Anderson, I. (2002). Efficacy and tolerability of venlafaxine compared with selective serotonin reuptake inhibitors and other antidepressants: a meta-analysis. *The British journal of psychiatry*, 180(5), 396–404.
- Sobocki, P., Jönsson, B., Angst, J. eta Rehnberg, C. (2006). Cost of depression in Europe. *The Journal of Mental Health Policy and Economics*, 9(2), 87–98.
- Sohrabji, F., Miranda, R. C. eta Toran-Allerand, C. D. (1995). Identification of a putative estrogen response element in the gene encoding brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(24), 11110–11114.
- Solomon, M. B. (2017). Evaluating Social Defeat as a Model for Psychopathology in Adult Female Rodents, 776, 763–776. <http://doi.org/10.1002/jnr.23971>
- Solomon, M. B. eta Herman, J. P. (2009). Sex differences in psychopathology: of gonads, adrenals and mental illness. *Physiology & behavior*, 97(2), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.02.033>
- Song, I.-H. eta Buttgereit, F. (2006). Non-genomic glucocorticoid effects to provide the basis for new drug developments. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 246(1–2), 142–146. <http://doi.org/10.1016/j.mce.2005.11.012>

BIBLIOGRAFIA

- Sonino, N. eta Fava, G. A. (2002). CNS drugs in Cushing's disease: pathophysiological and therapeutic implications for mood disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 26(5), 1011–1018.
- Spijker, S. (2011). Dissection of Rodent Brain Regions (13–26 orriak). Humana Press, Totowa. http://doi.org/10.1007/978-1-61779-111-6_2
- Stahl, S. M. (2013). *Stahl's essential psychopharmacology : neuroscientific basis and practical application* (4. ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Stamatakis, A., Kalpachidou, T., Raftogianni, A., Zografou, E., Tzanou, A., Pondiki, S. eta Stylianopoulou, F. (2015). Rat dams exposed repeatedly to a daily brief separation from the pups exhibit increased maternal behavior, decreased anxiety and altered levels of receptors for estrogens (ER α , ER β), oxytocin and serotonin (5-HT1A) in their brain. *Psychoneuroendocrinology*, 52(1), 212–228. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.11.016>
- Suzuki, E., Shintani, F., Kanba, S., Asai, M. eta Nakaki, T. (1996). Induction of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist mRNA by chronic treatment with various psychotropics in widespread area of rat brain. *Neuroscience Letters*, 215(3), 201–204.
- Swaab, D. F., Bao, A.-M. eta Lucassen, P. J. (2005). The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*, 4(2), 141–94. <http://doi.org/10.1016/j.arr.2005.03.003>
- Takahashi, A., Chung, J.-R., Zhang, S., Zhang, H., Grossman, Y., Aleyasin, H., ... Russo, S. J. (2017). Establishment of a repeated social defeat stress model in female mice. *Scientific Reports*, 7(1), 12838. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-12811-8>
- Taraz, M., Khatami, M.-R., Gharekhani, A., Abdollahi, A., Khalili, H. eta Dashti-Khavidaki, S. (2012). Relationship between a pro- and anti-

- inflammatory cytokine imbalance and depression in haemodialysis patients. *European Cytokine Network*, 23(4), 179–186. <http://doi.org/10.1684/ecn.2013.0326>
- Taylor, S. E., Klein, L. C., Lewis, B. P., Gruenewald, T. L., Gurung, R. A. eta Updegraff, J. A. (2000). Biobehavioral responses to stress in females: tend-and-befriend, not fight-or-flight. *Psychological Review*, 107(3), 411–429.
- ter Heegde, F., De Rijk, R. H. eta Vinkers, C. H. (2015). The brain mineralocorticoid receptor and stress resilience. *Psychoneuroendocrinology*, 52(1), 92–110. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.10.022>
- Thase, M., Asami, Y., Wajsbrot, D., Dorries, K., Boucher, M. eta Pappadopulos, E. (2017). A meta-analysis of the efficacy of venlafaxine extended release 75–225 mg/day for the treatment of major depressive disorder. *Current Medical Research and Opinion*, 33(2), 317–326. <http://doi.org/10.1080/03007995.2016.1255185>
- Thase, M. E., Entsuah, R., Cantillon, M. eta Kornstein, S. G. (2005). Relative Antidepressant Efficacy of Venlafaxine and SSRIs: Sex-Age Interactions. *Journal of Women's Health*, 14(7), 609–616. <http://doi.org/10.1089/jwh.2005.14.609>
- Thomson, P. (2004). *Physician's Desk Reference* (58th ed.). Motvare.
- Tsankova, N. M., Berton, O., Renthal, W., Kumar, A., Neve, R. L. eta Nestler, E. J. (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nature Neuroscience*, 9(4), 519–525. <http://doi.org/nn1659>
- Tsigos, C. eta Chrousos, G. P. (1994). Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 23(3), 451–66.
- Tu, H., Rady, P. L., Juelich, T., Smith, E. M., Tying, S. K. eta Hughes, T. K.

BIBLIOGRAFIA

- (2005). Cytokine regulation of tryptophan metabolism in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis: implications for protective and toxic consequences in neuroendocrine regulation. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 25(3–4), 673–680. <http://doi.org/10.1007/s10571-005-4007-1>
- Van Amsterdam, J. G. C. eta Opperhuizen, A. (1999). Nitric oxide and biopterin in depression and stress. *Psychiatry Research*, 85(1), 33–8.
- Van Donkelaar, E. L., van den Hove, D. L. A., Blokland, A., Steinbusch, H. W. M. eta Prickaerts, J. (2009). Stress-mediated decreases in brain-derived neurotrophic factor as potential confounding factor for acute tryptophan depletion-induced neurochemical effects. *European Neuropsychopharmacology*, 19(11), 812–821. <http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.06.012>
- Van Eekelen, J. A. M., Jiang, W., De Kloet, E. R. eta Bohn, M. C. (1988). Distribution of the mineralocorticoid and the glucocorticoid receptor mRNAs in the rat hippocampus. *Journal of Neuroscience Research*, 21(1), 88–94. <http://doi.org/10.1002/jnr.490210113>
- Van Praag, H. M. (2004). Can stress cause depression? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28(5):891-907. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.05.031>
- Vegas, Ó., VanBuskirk, J., Richardson, S., Parfitt, D., Helmreich, D., Rempel, M., ... Tausk, F. (2012). Effects of psychological stress and housing conditions on the delay of wound healing. *Psicothema*, 24(4), 581–6.
- Veldhuis, J. D., Iranmanesh, A., Johnson, M. L. eta Lizarralde, G. (1990). Amplitude, but not frequency, modulation of adrenocorticotropin secretory bursts gives rise to the nyctohemeral rhythm of the corticotropic axis in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 71(2), 452–463. <http://doi.org/10.1210/jcem-71-2-452>
- Veldhuis, J. D., Iranmanesh, A., Roelfsema, F., Aoun, P., Takahashi, P., Miles, J. M. eta Keenan, D. M. (2011). Tripartite Control of Dynamic

- ACTH-Cortisol Dose Responsiveness by Age, Body Mass Index, and Gender in 111 Healthy Adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(9), 2874–2881. <http://doi.org/10.1210/jc.2011-0084>
- Venzala, E., García-García, a. L., Elizalde, N., Delagrangue, P. eta Tordera, R. M. (2012). Chronic social defeat stress model: Behavioral features, antidepressant action, and interaction with biological risk factors. *Psychopharmacology*, 224(2), 313–325. <http://doi.org/10.1007/s00213-012-2754-5>
- Viant, M. R., Millam, J. R., Delany, M. E. eta Fry, D. M. (2000). Regulation of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA levels in avian hypothalamic slice cultures. *Neuroscience*, 99(2), 373–80.
- Villanueva, R. (2013). Neurobiology of major depressive disorder. *Neural Plasticity*, 873278. <http://doi.org/10.1155/2013/873278>
- Vollmar, P., Nessler, S., Kalluri, S. R., Hartung, H.-P. eta Hemmer, B. (2009). The antidepressant venlafaxine ameliorates murine experimental autoimmune encephalomyelitis by suppression of pro-inflammatory cytokines. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(4), 525–536. <http://doi.org/10.1017/S1461145708009425>
- Voorhees, J. L., Tarr, A. J., Wohleb, E. S., Godbout, J. P., Mo, X., Sheridan, J. F., ... Marsh, C. B. (2013). Prolonged restraint stress increases IL-6, reduces IL-10, and causes persistent depressive-like behavior that is reversed by recombinant IL-10. *PLoS One*, 8(3), e58488. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0058488>
- Wald, C. eta Wu, C. (2010). Biomedical research. Of mice and women: the bias in animal models. *Science (New York, N.Y.)*, 327(5973), 1571–1572. <http://doi.org/10.1126/science.327.5973.1571>
- Weiss, I. C., Pryce, C. R., Jongen-Rêlo, A. L., Nanz-Bahr, N. I. eta Feldon, J. (2004). Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*, 152(2),

279–295. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.015>

Wise, D. D., Felker, A. eta Stahl, S. M. (2008). Tailoring treatment of depression for women across the reproductive lifecycle: the importance of pregnancy, vasomotor symptoms, and other estrogen-related events in psychopharmacology. *CNS spectrums*, 13(8), 647–662. <https://doi.org/10.1017/S1092852900013742>

Witorsch, R. J. (2016). Effects of elevated glucocorticoids on reproduction and development: relevance to endocrine disruptor screening. *Critical Reviews in Toxicology*, 46(5), 420–436. <http://doi.org/10.3109/10408444.2016.1140718>

Wong, M. L., Kling, M. A., Munson, P. J., Listwak, S., Licinio, J., Prolo, P., ... Gold, P. W. (2000). Pronounced and sustained central hypernoradrenergic function in major depression with melancholic features: relation to hypercortisolism and corticotropin-releasing hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(1): 325–330.

Woo, N. H. eta Lu, B. (2006). Regulation of Cortical Interneurons by Neurotrophins: From Development to Cognitive Disorders. *The Neuroscientist*, 12(1), 43–56. <http://doi.org/10.1177/1073858405284360>

World Health Organization. (2017). Depression and other common mental disorders: global health estimates.

Wu, C. W., Chen, Y. C., Yu, L., Chen, H. I., Jen, C. J., Huang, A. M., ... Kuo, Y. M. (2007). Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. *Journal of Neurochemistry*, 103(6), 2471–2481. <http://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04987.x>

Xing, Y., He, J., Hou, J., Lin, F., Tian, J. eta Kurihara, H. (2013). Gender differences in CMS and the effects of antidepressant venlafaxine in rats. *Neurochemistry International*, 63(6), 570–5.

<http://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.09.019>

- Xu, D., Lian, D., Wu, J., Liu, Y., Zhu, M., Sun, J., ... Li, L. (2017). Brain-derived neurotrophic factor reduces inflammation and hippocampal apoptosis in experimental *Streptococcus pneumoniae* meningitis. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1), 156. <http://doi.org/10.1186/s12974-017-0930-6>
- Yan, Q., Rosenfeld, R. D., Matheson, C. R., Hawkins, N., Lopez, O. T., Bennett, L. eta Welcher, A. A. (1997). Expression of brain-derived neurotrophic factor protein in the adult rat central nervous system. *Neuroscience*, 78(2), 431–48.
- Yau, J. L. W., Noble, J., Thomas, S., Kerwin, R., Morgan, P. E., Lightman, S., ... Pariante, C. M. (2007). The antidepressant desipramine requires the ABCB1 (Mdr1)-type p-glycoprotein to upregulate the glucocorticoid receptor in mice. *Neuropsychopharmacology*, 32(12), 2520–2529. <http://doi.org/10.1038/sj.npp.1301389>
- Yi, B., Rykova, M., Feuerecker, M., Jäger, B., Ladinig, C., Basner, M., ... Choukèr, A. (2014). 520-d Isolation and confinement simulating a flight to Mars reveals heightened immune responses and alterations of leukocyte phenotype. *Brain, Behavior, and Immunity*, 40, 203–210. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.018>
- Yoshimura, S., Sakamoto, S., Kudo, H., Sassa, S., Kumai, A. eta Okamoto, R. (2003). Sex-differences in adrenocortical responsiveness during development in rats. *Steroids*, 68(5), 439–45.
- You, Z., Luo, C., Zhang, W., Chen, Y., He, J., Zhao, Q., ... Wu, Y. (2011). Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: Involvement in depression. *Behavioural Brain Research*, 225(1), 135–141.
- Yu, H. eta Chen, Z. (2011). The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. *Acta Pharmacologica Sinica*, 32(1), 3–11. <http://doi.org/10.1038/aps.2010.184>

BIBLIOGRAFIA

- Zachariae, R. (2009). Psychoneuroimmunology: A bio-psycho-social approach to health and disease. *Scandinavian Journal of Psychology*, 50(6), 645–651. <http://doi.org/10.1111/j.1467-9450.2009.00779.x>.
- Zahn-Waxler, C. (2000). The Development of Empathy, Guilt, and Internalization of Distress. *Anxiety, Depression, and Emotion* (222–265 orriak). Oxford University Press. <http://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195133585.003.0011>
- Zarrouf, F. A., Artz, S., Griffith, J., Sirbu, C. eta Kommor, M. (2009). Testosterone and depression: systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychiatric Practice*®, 15(4), 289-305. <http://doi.org/10.1097/01.pra.0000358315.88931.fc>
- Zhang, J., Ge, R., Matte-Martone, C., Goodwin, J., Shlomchik, W. D., Mamula, M. J., ... Geller, D. (2009). Characterization of a novel gain of function glucocorticoid receptor knock-in mouse. *Journal of Biological Chemistry*, 284(10), 6249–6259. <http://doi.org/10.1074/jbc.M807997200>
- Zhao, Y., Zhang, Y. eta Pan, F. (2015). Experimental immunology The effects of EGb761 on lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in C57BL/6J mice. *Central European Journal of Immunology*, 1, 11–17. <http://doi.org/10.5114/ceji.2015.49427>
- Zhou, X., Bailey-Bucktrout, S., Jeker, L. T. eta Bluestone, J. A. (2009). Plasticity of CD4(+) FoxP3(+) T cells. *Current Opinion in Immunology*, 21(3), 281–285. <http://doi.org/10.1016/j.coi.2009.05.007>
- Zimmer, C. eta Spencer, K. A. (2014). Modifications of glucocorticoid receptors mRNA expression in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to early-life stress in female Japanese quail. *Journal of Neuroendocrinology*, 26(12), 853–860. <http://doi.org/10.1111/jne.12228>
- Zomkowski, A. D. E., Engel, D., Gabilan, N. H. eta Rodrigues, A. L. S. (2010). Involvement of NMDA receptors and l-arginine-nitric oxide-cyclic

guanosine monophosphate pathway in the antidepressant-like effects of escitalopram in the forced swimming test. *European Neuropsychopharmacology*, 20(11), 793–801. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2010.07.011>

Zucker, I. eta Beery, A. K. (2010). Males still dominate animal studies. *Nature*, 465(7299), 690–690. <http://doi.org/10.1038/465690a>

VII. ERANSKINA

I ERANSKINA

SAGU KAIOLA-KIDEAK BIRRIAN EZ EGOKITZEKO KONBINAZIO SISTEMA

Taularen goiko lerroan eta ezkerreko zutabean koloreztatutako zenbakiak subjektuak irudikatzen dituzte. Taula barruko zenbakiak berriz, zazpi taldekatze egoeretako bakoitza, eta subjektu baten lerroari so eginez gero, egoera bakoitzean zein kaiola-kide egokitu zitzaizkion ikus daiteke. Adibidez: Ezkerreko zutabean kolore orlegiz dagoen 26 izeneko subjektuaren lerroan, hirutan aurkitzen da 1 egoera. Hiru 1 horietako bakoitzaren zutabea jarraituz gero, dagokion subjektua topatzen da goiko koloredun lerroan. Beraz, 26 subjektua 1. konbinazio egoeran 4, 31 eta 21 subjektuekin zegoen taldekatuta (ikus 9. irudia).

	2	3	4	1	30	31	32	29	26	27	28	25	22	23	24	21	18	19	20	17	14	15	16	13	10	11	12	9	6	7	8	5			
2	0	0	0				6	1		5	3	2		4	5	3	6		2	4	7	3	6		7	2	1		7	1	4	5			
3	0	0	0	1			5	4	2			1	3			6		6	4	2	4	7	3	5	5	7	2	3		7	1	6			
4	0	0	0	0	4	1		3	1	2			6	3		1	2	4	6	5	5		7	4	3		7	2	6	5	7				
1	0	0	0	0	5	6					3	2			5	4		4	2	5	6	3	6	1	7	2	1		7	1	4	3	7		
30	1	4	5	0	0	0	0	0	7	6	1	7	5	3	2	7	4	5	3	6			2	4		3	6						2	1	
31		1	6	0	0	0	0	1	7	5	4	2	7		1	3	7		6		6	4	2	4		3	5	5					2	3	
32	6	5		0	0	0	0	4	1	7	3	1	2	7		6	3	7	1	2	4	6	5	5				4	3					2	
29	1	4	3	0	0	0	0	5	6		7		3	2	7		5	4	7	4	2	5	6	3	6	1		2	1						
26	2	1		7	1	4	5	0	0	0	7		6	1	7	5	3	2		4	5	3	6			2	4		3	6					
27	5	2	3		7	1	6	0	0	0	1	7	5	4	2	7		1	3			6			6	4	2	4					3	5	
28	3		2	6	5	7		0	0	0	0	4	1	7	3	1	2	7		6	3		1	2	4	6	5	5						4	
25	2	1		1	4	3	7	0	0	0	0	5	6		7		3	2	7		5	4		4	2	5	6	3	6	1					
22	3	6		7	2	1		7	1	4	5	0	0	0	7		6	1		5	3	2		4	5	3	6							2	4
23	4		3	5	7	2	3		7	1	6	0	0	0	1	7	5	4	2			1	3			6			6	4	2				
24	5		4	3		7	2	6	5	7		0	0	0	0	4	1	7	3	1	2			6	3		1	2	4	6	5				
21	3	6	1		2	1		7	1	4	3	7	0	0	0	0	5	6		7		3	2			5	4		4	2	5	6			
18	6		2	4	7	3	6		7	2	1		7	1	4	5	0	0	0			6	1		5	3	2		4	5	3				
19		6	4	2	4	7	3	5	5	7	2	3		7	1	6	0	0	0	1		5	4	2			1	3						6	
20	2	4	6	5	5		7	4	3		7	2	6	5	7		0	0	0	0	4	1		3	1	2			6	3				1	
17	4	2	5	6	3	6	1	7	2	1		7	1	4	3	7	0	0	0	0	5	6			3	2			5	4					
14	7	4	5	3	6	2	4		3	6			2	1			1	4	5	0	0	0	7		6	1	7	5	3	2					
15	3	7		6		6	4	2	4		3	5	5		2	3			1	6	0	0	0	1	7	5	4	2	7					1	
16	6	3	7	1	2	4	6	5	5		4	3			2	6	5			0	0	0	0	4	1	7	3	1	2	7					
13		5	4	7	4	2	5	6	3	6	1		2	1			1	4	3		0	0	0	5	6		7		3	2	7				
10	7	5	3	2		4	5	3	6		2	4		3	6			2	1		7	1	4	5	0	0	0	7		6	1				
11	2	7		1	3			6		6	4	2	4		3	5	5		2	3		7	1	6	0	0	0	1	7	5	4				
12	1	2	7		6	3		1	2	4	6	5	5		4	3			2	6	5	7		0	0	0	0	4	1	7	3				
9		3	2	7		5	4		4	2	5	6	3	6	1		2	1		1	4	3	7	0	0	0	0	5	6						7
6	7		6	1		5	3	2		4	5	3	6		2	4		3	6		7	2	1		7	1	4	5	0	0	0				0
7	1	7	5	4	2			1	3			6		6	4	2	4		3	5	5	7	2	3		7	1	6	0					0	0
8	4	1	7	3	1	2			6	3		1	2	4	6	5	5			4	3		7	2	6	5	7		0	0					0
5	5	6		7		3	2			5	4		4	2	5	6	3	6	1		2	1		7	1	4	3	7	0	0					0

9. irudia. Saguak taldekatzeko kaiola-kide konbinazio egoera desberdinak.
Egilea: Joxeba Lizeaga Arostegi.

