



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Título:

“EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Psilocybe cubensis*
EN UN MODELO DE DEPRESIÓN GENERADO POR ESTRÉS
TEMPRANO EN RATA”

Presenta:

CAROLINA GALICIA RAMÍREZ

Tesis presentada para obtener el grado de

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

Director de tesis

D. EN C. JORGE FLORES-HERNÁNDEZ

Codirectora de tesis

M. EN C. EVELYN RUÍZ-LUNA

ASESORES DE TESIS:

M. EN C. UBALDO QUIROZ LÓPEZ

DR. SALVADOR GALICIA ISASMENDI



MARZO, 2020

ÍNDICE

RESUMEN	1
1 INTRODUCCIÓN	3
CAUSAS DE LA DEPRESIÓN	4
<i>Factor genético</i>	5
<i>Factor social</i>	5
<i>Eventos adversos de la infancia</i>	5
<i>Alteraciones en monoaminas</i>	8
ANTIDEPRESIVOS DE EFECTO RÁPIDO, PERSPECTIVA DE LAS SUSTANCIAS ALUCINÓGENAS	16
<i>Hongos alucinógenos, Psilocybe cubensis</i>	18
<i>Estudio del efecto de sustancias psicoactivas en animales</i>	20
ESTUDIO DE LA DEPRESIÓN EN ANIMALES	21
<i>Modelos animales de depresión</i>	22
<i>Modelos de estrés agudo</i>	22
<i>Modelos de estrés crónico</i>	23
<i>Estrés en la vida temprana: separación materna</i>	23
<i>Pruebas de conducta en modelos animales de depresión</i>	24
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
JUSTIFICACIÓN	26
OBJETIVO GENERAL	29
OBJETIVOS PARTICULARES	29
HIPÓTESIS	30
METODOLOGÍA	31
DISEÑO EXPERIMENTAL	31
<i>Criterios de inclusión</i>	32
<i>Criterios de exclusión</i>	33

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>P. CUBENSIS</i> _____	35
GENERACIÓN DE SINTOMATOLOGÍA DEPRESIVA EN RATAS _____	35
ADMINISTRACIÓN DE LOS FÁRMACOS _____	37
PRUEBAS CONDUCTUALES _____	38
<i>Prueba de anhedonia: preferencia a la sacarosa</i> _____	38
<i>Prueba de nado forzado (PNF)</i> _____	39
ANÁLISIS ESTADÍSTICO _____	42
RESULTADOS _____	45
DISCUSIÓN _____	58
CONCLUSIONES _____	62
BIBLIOGRAFÍA _____	63
ANEXOS _____	70
ANEXO 1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>P. CUBENSIS</i> _____	70
ANEXO 2. TABLA DE VALORES Y SIGNIFICANCIA DE LA CONDUCTA, LATENCIA Y HECES ANTES Y DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN (DPN39 Y DPN 60) _____	76
ANEXO 3. VALORES PROMEDIO DE LAS CONDUCTAS, LATENCIA, HECES, PESO Y PREFERENCIA DE SACAROSA _____	78
ANEXO 3. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ESTADÍSTICAS Y SIGNIFICANCIA CORRESPONDIENTES A LA CONDUCTA, LATENCIA, NÚMERO DE HECES, PESO Y PREFERENCIA A LA SACAROSA. _____	81

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Marco teórico unificador de cómo las experiencias en la vida temprana pueden inducir cambios en el comportamiento a largo plazo</i>	7
<i>Figura 2. Principales neurotransmisores y neuromoduladores</i>	9
<i>Figura 3. Neurona serotoninérgica. Tomado de Kandel, 2012.</i>	15
<i>Figura 4. Estructuras de algunos psicodélicos que han sido estudiados en pacientes con TDM</i>	18
<i>Figura 5. Psilocybe cubensis</i>	19
<i>Figura 6. Head Twitch Reponse (HTR)</i>	21
<i>Figura 7. Diseño experimental del proyecto</i>	34
<i>Figura 8. Protocolo de separación materna</i>	37
<i>Figura 9. Protocolo de nado forzado</i>	41
<i>Figura 10. Frecuencia promedio de los episodios de inmovilidad</i>	45
<i>Figura 11. Latencia promedio de los episodios de inmovilidad</i>	47
<i>Figura 12. Frecuencia promedio de escaladas</i>	49
<i>Figura 13. Latencia promedio de los episodios de escalada</i>	51
<i>Figura 14. Frecuencia promedio de los episodios de natación</i>	52
<i>Figura 15. Latencia promedio de los episodios de natación</i>	53
<i>Figura 16. Promedio de heces durante las pruebas de nado forzado programadas</i>	55
<i>Figura 17. Ajuste asintótico de los pesos obtenidos a lo largo de los días</i>	56
<i>Figura 18. Resultados de la prueba de anhedonia</i>	57

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Clasificación de los antidepresivos</i>	12
<i>Tabla 2. Resultados de la prueba de Wilcoxon para la comparativa pre vs post tratamiento</i>	76
<i>Tabla 3. Resultados de la prueba de Wilcoxon para la comparativa pre vs. post tratamiento en cuanto a la preferencia a la sacarosa</i>	77
<i>Tabla 4. Frecuencia promedio de inmovilidades</i>	78
<i>Tabla 5. Frecuencia promedio de escaladas</i>	78
<i>Tabla 6. Frecuencia promedio de nado</i>	78
<i>Tabla 7. Latencia promedio de los episodios de inmovilidad (s)</i>	79
<i>Tabla 8. Latencia promedio de los episodios de escalada (s)</i>	79
<i>Tabla 9. Latencia promedio de los episodios de nado (s)</i>	79
<i>Tabla 10. Promedio de heces durante la PNF</i>	80
<i>Tabla 11. Pesos promedio durante la PNF</i>	80
<i>Tabla 12. Preferencia a la sacarosa (%)</i>	80
<i>Tabla 13. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de inmovilidad</i>	81
<i>Tabla 14. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de escalada escalada</i>	82
<i>Tabla 15. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de nado</i>	83
<i>Tabla 16. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de inmovilidad</i>	84
<i>Tabla 17. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de escalada</i>	85
<i>Tabla 18. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de nado</i>	86

<i>Tabla 19. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas del número de heces</i>	<i>87</i>
<i>Tabla 20. Resultados de la Prueba F y de significancia obtenidas del peso</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 21. Resultados de la prueba Kruskal-Wallis y Dunn, y de significancia obtenidas de los valores de preferencia de sacarosa</i>	<i>88</i>

Resumen

La depresión es catalogada como el mayor contribuyente de discapacidad a nivel mundial. Algunos de los síntomas depresivos pueden estudiarse en roedores tales como la anhedonia y la desesperanza en modelos animales generados a través de la separación materna. Debido a que el tratamiento con antidepresivos tiene un porcentaje bajo de pacientes en remisión y un aumento en las recaídas, recientemente se propuso el uso de antidepresivos de efecto rápido, entre ellos la psilocina. Misma que ha sido empleada, entre otros, como procedimiento alternativo para tratar la depresión en pacientes con cáncer terminal (se observó que el efecto terapéutico con acompañamiento psicológico perduro hasta los seis meses); alcoholismo y trastornos de ansiedad.

La hipótesis de este trabajo fue que si se administra el extracto metanólico de *P. cubensis* en ratas macho de un modelo de depresión por estrés temprano entonces presentarán una disminución de anhedonia y desesperación conductual.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del extracto metanólico de *P. cubensis* en el tratamiento de anhedonia y desesperación conductual en un modelo de depresión por estrés temprano en ratas macho.

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley bajo el paradigma de estrés crónico durante la vida temprana separadas en cinco grupos: ratas no separadas ni administradas (TA), separadas sin administración (DEP), separadas administradas con extracto metanólico de *Psilocybe cubensis* (DEP+EXTR), separadas administradas con sertralina (DEP+SERT) y un último grupo nombrado como DEP+VH consistente de ratas separadas administradas con solución salina isotónica (SSI).

Se empleó la prueba de nado forzado modificado por Slattery y Cryan (2012) antes y posterior a la administración como un marcador para evaluar la desesperación

conductual durante 2 meses. Al igual que la prueba de preferencia a la sacarosa para evaluar anhedonia antes y en el periodo posterior al tratamiento.

Concluimos que la administración aguda del extracto metanólico de *P. cubensis* tiene acción rápida y con mayor prevalencia que un tratamiento de la misma duración con sertralina, determinada mediante la disminución de los episodios de inmovilidad en un modelo de depresión causado por estrés temprano. Sin embargo, son necesarios más estudios que profundicen en los mecanismos asociados.

1 Introducción

La depresión es una condición que es reconocida desde la Antigua Grecia, en el siglo V a. C. cuando Hipócrates postuló que la depresión era la consecuencia del exceso de bilis negra, de acuerdo con su teoría de los cuatro humores (Kandel *et al.*, 2012). Fue hasta mediados del siglo XX cuando, gracias al desarrollo de la tecnología, se inició la búsqueda de los neurotransmisores involucrados (Escobar, A; Guadarrama, L. y Zhang, 2006).

Aunado a lo anterior, actualmente existen problemas en los criterios de diagnóstico debido a que no existe un consenso claro sobre cómo se deben clasificar los trastornos mentales, como la depresión, puesto que están involucrados diversos factores, de ahí su naturaleza compleja, y por lo tanto categorizarla es reducir la efectividad del diagnóstico. Por lo que, en el presente trabajo se referenciará como trastorno depresivo mayor (TDM) a través de una serie de componentes principales como la anhedonia, el incremento o pérdida de peso y desesperanza conductual. Mismos que podrían estar involucrados en ansiedad u algún otro trastorno psicológico (Clack y Ward, 2019).

El TDM se caracteriza por la presencia de talante bajo, energía reducida, pérdida del interés, baja concentración y la presencia de desesperanza, entre otras (Kandel *et al.*, 2012).

El TDM tiene una incidencia creciente en niños y jóvenes, lo cual quizá esté ligado a las tasas de suicidio. Cabe reportar que reportada como la quinta causa incapacitante a nivel mundial ya que, en algún momento durante la vida, afecta al 20% de mujeres y 12% de hombres (Escobar, A; Guadarrama, L. y Zhang, 2006).

De acuerdo con la quinta edición del Manual de Diagnóstico y Estadístico de Desórdenes Mentales (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, DSM-

V, 2013), el TDM se caracteriza, principalmente, por la persistencia durante el periodo de dos semanas de cinco o más de los siguientes síntomas:

1. Estado de ánimo deprimido, durante la mayor parte del día, casi todos los días.
2. Disminución del interés o placer al realizar actividades.
3. Pérdida de peso sin hacer dieta, aumento de peso, o variaciones en el apetito casi todos los días.
4. Insomnio o hipersomnia casi todos los días.
5. Agitación o retraso psicomotor (sensación de inquietud o de enlentecimiento).
6. Fatiga o pérdida de energía.
7. Disminución de concentración o en la capacidad de toma de decisiones.
8. Ideas suicidas recurrentes sin un plan determinado, o con un plan específico, para llevarlo a cabo.
9. Son frecuentes los sentimientos de no valer nada y de desprecio por uno mismo, estos pensamientos se centran en poner fin a la propia vida debido al sentimiento de inutilidad.
10. El episodio no se puede atribuir a los efectos fisiológicos de una sustancia o de otra afección médica.

Causas de la depresión

La combinación de factores familiares, sociales, psicológicos y biológicos pueden favorecer el desarrollo de la depresión, aunque esta condición también puede surgir a partir de enfermedades físicas, o alteraciones hormonales como el hipotiroidismo, y de síndromes psiquiátricos (alcoholismo y trastornos alimenticios). Por las razones antes puntualizadas, nos encontramos ante una condición multifactorial y, por ende,

de alta complejidad, sin embargo, se ha propuesto que los factores genético, neuronal y psicosocial son altamente afines.

Factor genético

El factor genético es responsable de las formas más severas de TDM, mientras que los efectos del medio ambiente provocan formas menos severas. Los marcadores potencialmente dañinos se encuentran en los cromosomas X, 4, 5, 11, 18 y 21. Se han reportado marcadores relacionados con la neurobiología de la depresión en el brazo largo del cromosoma 5 involucrados en la transcripción de receptores para norepinefrina, dopamina, ácido gama-aminobutírico y glutamato (Baldwin & Birtwistle, 2002). Además, el alelo corto (S) del gen del transportador de serotonina 5-HTT (SLC6A4) está asociado con la actividad del complejo amigdaloides mayor en los portadores del alelo S del 5-HTTLPR en comparación con los homocigotos con el alelo largo (L) (Diaz Villa & González González, 2012).

Factor social

Entre los factores de vulnerabilidad psicológicos reconocidos para la depresión figuran la baja autoestima, eventos adversos en la infancia, adaptación social negativa, patrones de pensamiento negativos sobre sí mismo y sobre los demás, eventos indeseables (muerte de un familiar, divorcio, incluso despido), desempleo, hacinamiento prolongado, falta de recursos económicos, dinámica familiar y estrés social crónico (Baldwin & Birtwistle, 2002). El estrés, por ejemplo, es un factor potencialmente dañino que favorece el estado depresivo reactivo y que desencadena los cambios fisiológicos y hormonales asociados al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (Escobar, A; Guadarrama, L. y Zhang, 2006).

Eventos adversos de la infancia

En la actualidad es común encontrar un gran número de mujeres empleadas con hijos (as) por lo cual, optan por un cuidado alternativo. Estudios centrados en esta situación, reportan que los niños separados de su madre antes de los 9 meses de edad, situados en algún tipo de cuidado alternativo, son propensos a desarrollar un apego inseguro entre la madre y el hijo (a). Sin embargo, los efectos principales también dependen de la actitud de la madre y el proceso por el cual ella forma lazos de apego con su hijo (a) (Stifter, 1993).

Las experiencias en la vida temprana que contribuyen a la resiliencia (capacidad para superar situaciones adversas) o vulnerabilidad se traducen en estímulos del ambiente en general (por ejemplo, pobreza, riqueza, guerra, hambruna) que podrían desencadenar el desarrollo de desórdenes emocionales o cognitivos en la vida tardía (Figura 1; Bolton *et al.*, 2017; Short, Bolton, & Baram, 2019).

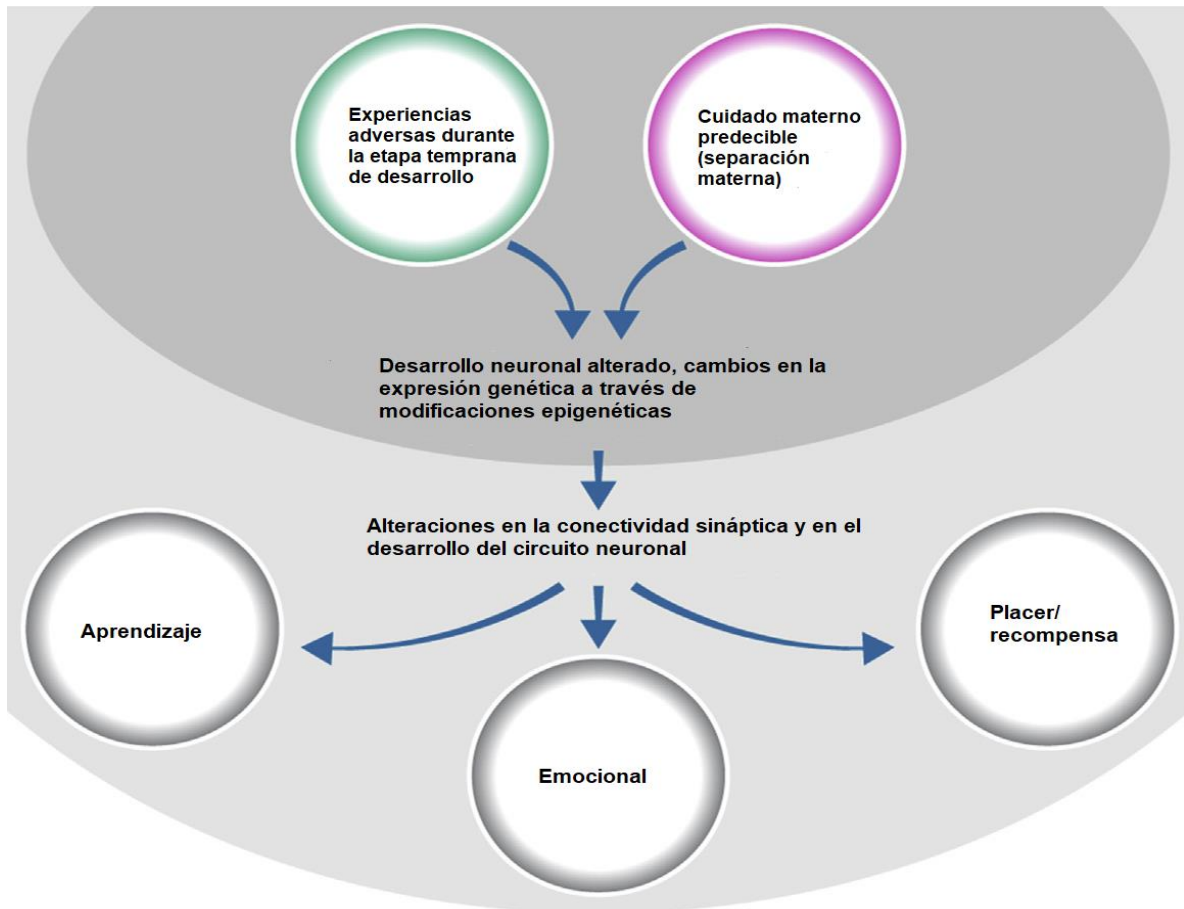


Figura 1. Marco teórico unificador de cómo las experiencias en la vida temprana pueden inducir cambios en el comportamiento a largo plazo. Tomado de Bolton et al. 2017

En adición, recientemente, Zajdel (2019) y su equipo de investigación, señalan que el cuidado maternal es crucial en el desarrollo del infante. El contacto maternal es la experiencia ambiental más significativa durante el desarrollo. Los patrones alterados de cuidado maternal, que exhiben inconsistencia, negligencia y/o falta de sensibilidad, puede ser la causa fundamental de estrés en fases tempranas del desarrollo del infante. Además, la separación maternal, como experiencia adversa en la vida temprana, puede ser un factor potencial para propiciar en el individuo algún futuro desorden emocional (aunado a la genética) durante etapas posteriores de la vida (Bolton et al., 2017; Short, Bolton, & Baram, 2019)

El estrés en infantes se valora a través de la elevación persistente de corticosterona plasmática e hipertrofia suprarrenal. Estos rasgos están relacionados con vulnerabilidad emocional y cognitiva en la edad adulta. Más aun, existen reportes de niños criados en un orfanato que presentan una reducción del volumen hipocampal. Estos resultados están respaldados por análisis en roedores que permiten proponer que la reducción del volumen hipocampal en humanos también es resultado, y consecuencia, de una disminución en el crecimiento sináptico y la ramificación de las dendritas neuronales (Bolton *et al.*, 2017).

Alteraciones en monoaminas

La hipótesis de alteraciones de monoaminas durante la condición depresiva postula que un desequilibrio en la neurotransmisión monoaminérgica se relaciona causalmente con las características clínicas de depresión (Köhler *et al.*, 2016). }

Las operaciones cerebrales responsables de nuestra capacidad mental ocurren fundamentalmente en la corteza cerebral (CC). El lóbulo frontal (LB) constituye una estructura crítica en el desarrollo del sistema nervioso. Las relaciones con los congéneres propician un desarrollo del LB, lo cual es una prueba contundente de su implicación en el comportamiento y a la realización de conductas complejas, tales como la consecución de metas o toma de decisiones. Estos procesos engloban la formación de conceptos, razonamiento abstracto, planificación, organización, evaluación de errores, flexibilidad cognitiva y creatividad, involucradas en el manejo y adaptación a situaciones novedosas; es decir, de la función ejecutiva. Dichos procesos se relacionan con una parte del LB, la corteza prefrontal (CPF). La CPF está conectada con áreas involucradas en la conducta emocional (como el núcleo accumbens, amigdalino y los sistemas noradrenérgico, serotoninérgico y dopaminérgico del núcleo encefálico) lo que le proporciona información de toda clase de sucesos externos e internos (Kandel *et al.*, 2012). Producto de esta complejidad de conexiones es el hecho de que la corteza prefrontal no adquiera su

tamaño definitivo, conexiones y mielinización hasta el final de la adolescencia (Peña-Casanova, 2017).

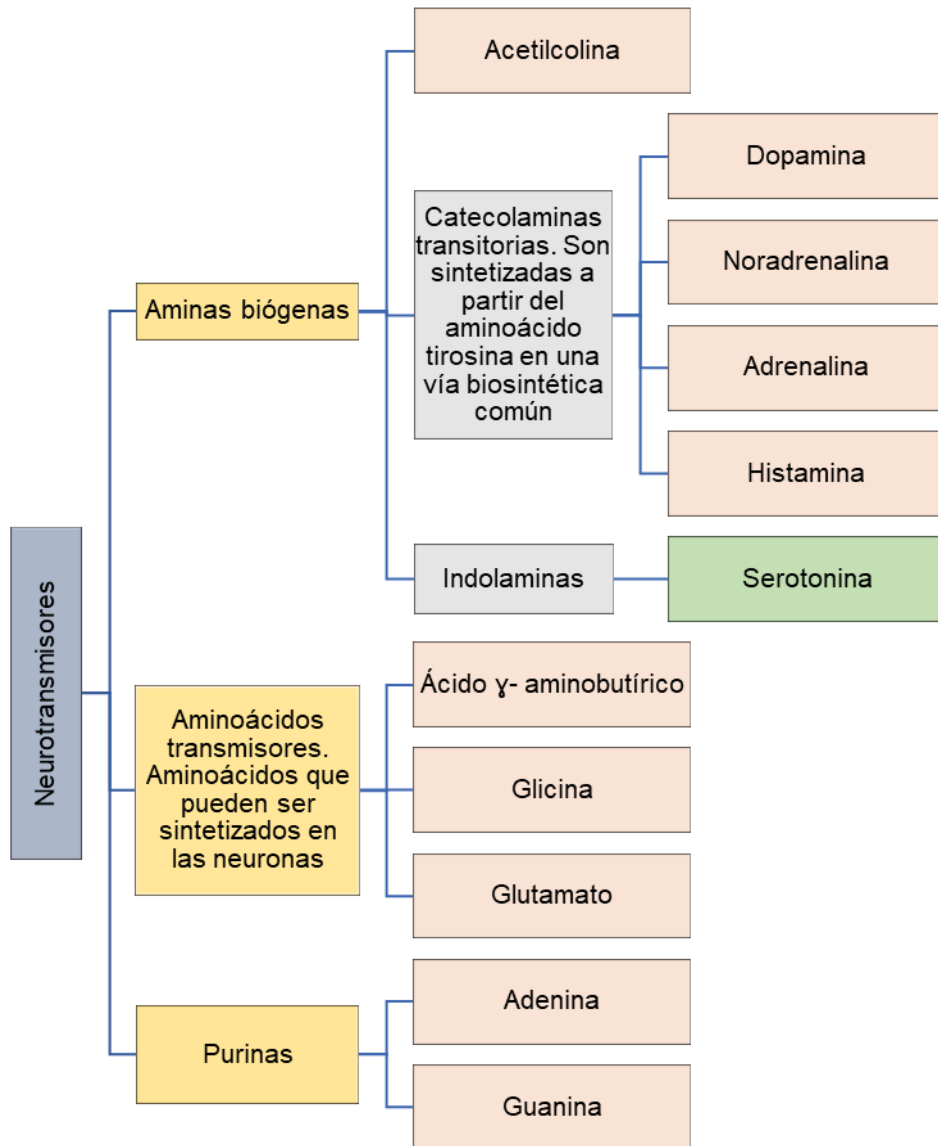


Figura 2. Principales neurotransmisores (en rosa) y neuromoduladores (en verde). Las aminas comparten muchas semejanzas bioquímicas, pues son moléculas pequeñas y se forman en vías biosintéticas cortas y todas se sintetizan a través de precursores derivados de los principales sustratos de hidratos de carbono del metabolismo intermediario. Como otras vías del metabolismo, intermediario, la síntesis de estos neurotransmisores es catalizada por enzimas que, casi sin excepción, están en el citosol. Como cualquier vía biosintética, normalmente, la síntesis global de aminas transmisoras está regulada en una reacción enzimática (Kandel et al., 2012)

Precisamente, las funciones de la CPF son coordinadas por la interacción de múltiples neurotransmisores. Los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas se encuentran únicamente en los núcleos de rafé del tronco encefálico y de ahí proyectan a las demás áreas. Estos núcleos participan en la regulación de la atención y en otras funciones cognitivas complejas. Las proyecciones de estas células se distribuyen ampliamente por el encéfalo y la medula espinal. (Kandel *et al.*, 2012).

Las monoaminas son moléculas derivadas de aminoácidos. Pueden definirse como neurotransmisores o neuromoduladores. Un neurotransmisor o transmisor químico es una sustancia liberada por una neurona en la sinapsis química para permitir la comunicación de neurona a neurona a través de la apertura de canales ionotrópicos. En esta categoría se encuentran la serotonina, dopamina, adrenalina y el glutamato (Figura 2). Por otro lado, un neuromodulador es una sustancia liberada de una neurona que altera las propiedades sinápticas de otra neurona a través de la modificación de la apertura de canales metabotrópicos. Dentro de esta división se encuentra la serotonina (Katz, 1999).

La serotonina o 5-HT, y el aminoácido esencial triptófano del que procede, pertenece a un grupo de compuestos aromáticos llamados indoles, con un anillo de cinco elementos que contiene nitrógeno unido a un anillo de benceno. Para sintetizar serotonina son necesarias dos enzimas: triptófano hidroxilasa y a continuación 5-hidroxitriptófano (5-HTP; Kandel *et al.*, 2012).

Se ha observado que pacientes deprimidos sin tratamiento antidepresivo y con baja de 5-HT a través de disminución aguda de triptófano, presentan un descenso moderado en el ánimo, sin embargo, este efecto no fue observado al disminuir los niveles de norepinefrina y dopamina. En contraste, la disminución del ánimo y la posterior recaída a un estado deprimido, después de la disminución de 5-HT, norepinefrina y dopamina en pacientes deprimidos con tratamiento antidepresivo sí fue observado. Es importante recalcar que los controles sanos moderadamente

afectados tenían una historia familiar positiva de TDM (Diaz Villa & González González, 2012).

En la teoría serotoninérgica de la depresión se ha postulado diversos participantes en este trastorno. Entre ellos la concentración de 5-HT, alteraciones en la recaptura y degradación, así como alteraciones en los receptores serotoninérgicos, especialmente 5HT₁ y 5HT₂ (Kandel *et al.*, 2012) debido a que al parecer los receptores principalmente expresados en la corteza prefrontal (CPF) son el 5HT_{1a} y el 5HT_{2a}. Aunque los dos están expresados en la CPF, la activación del receptor 5HT_{1a} prevalece, por lo que se piensa que la serotonina ejerce una función fundamentalmente inhibitoria sobre la CPF. En la zona subcortical, el receptor 5HT_{1a} se encuentra, primordialmente, en los núcleos basales, y el receptor 5HT₃ está ubicado en el cuerpo estriado ventral, el hipocampo, el área septal y la amígdala (Gómez *et al.*, 2018).

En adición, de acuerdo con Moreno *et al.* (2005) tales alteraciones serotoninérgicas también incluyen:

1. Modificaciones en los receptores 5HT_{2A} en el cerebro (ligado al comportamiento impulsivo suicida).
2. Decremento en la neurotransmisión postsináptica en receptores 5HT_{1A} en el hipocampo.
3. Aumento en los receptores serotoninérgicos postsinápticos 5HT₂ en tejido de la CC y amígdala.
4. Disminución de 5-HT plasmática.

Debido a lo anteriormente mencionado, las alteraciones transitorias o permanentes en dichos sistemas han sido implicados en la producción de diversos procesos neuropsiquiátricos. Estudios en humanos muestran que la serotonina influye, especialmente, en la corteza orbitofrontal más que sobre la dorsolateral, lo cual

puede estar asociado con su papel en los trastornos depresivos (Peña-Casanova, 2017). En adición, análisis de tomografía de emisión de positrones y de resonancia magnética funcional en pacientes deprimidos, han evidenciado que durante la fase depresiva la actividad de la CPF disminuye (Kandel *et al.*, 2012).

Clasificación de los antidepresivos de acuerdo con su función (Alvano y Zieher 2019)		
Clase A, moduladores monoaminérgicos	A1, inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO)	A1A, irreversible no selectivo (tranilcipromina, fenelzina, isocarboxazida)
		A1B, selectivo irreversible de MAO-B (selegilina)
		A1C, selectivo reversible de MAO-A (moclobemida)
	A2, inhibidores de la recaptación neuronal	A2A, relativamente selectivo serotoninérgico (inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), por ejemplo, fluoxetina, sertralina, paroxetina, citalopram, escitalopran y fluvoxamina)
		A2B, serotoninérgico y noradrenérgico (inhibidores de la recaptación de serotonina-noradrenalina (IRSN), por ejemplo, venlafaxina, desvenlafaxina, duloxetina, milnacipran y levomilnacipran)
		A2C, noradrenérgico y dopaminérgico (inhibidor de la recaptación de noradrenalina y dopamina (NDRI), por ejemplo, bupropion)
	A3, antagonistas de los receptores $\alpha 2$	Antidepresivo serotoninérgico noradrenérgico y específico (NaSSA), tal como la mirtazapina
	A4, multimodales	A4A, serotoninérgicos (por ejemplo, vortioxetina, vilazodona, trazodona)
		A4B, noradrenérgicos, por ejemplo, mianserina y maprotilina
A4C, noradrenérgicos y serotoninérgicos con antagonismo muscarínico significativo, por ejemplo, imipramina, clorimipramina, amitriptilina, desipramina, nortriptilina		
Clase B, moduladores no aminérgicos	Agonistas de los receptores de melatonina (MT1 y MT2), tal como la agomelatina.	
Clase C. Drogas en investigación y desarrollo	Antidepresivos de acción rápida (Witkin et al, 2019), por ejemplo, antagonistas del receptor NMDA (ketamina; Duman, 2018), escopolamina y psilocibina (Witkin et al, 2019)	

Tabla 1. Clasificación de los antidepresivos

Con respecto a las alteraciones dopaminérgicas, se sugiere que cambios en el transportador de dopamina y en el receptor D2 en la amígdala puede estar ligado a los síntomas depresivos. Xiang y colaboradores (2009) realizaron un análisis en tejido cerebral *postmortem* en humanos con trastorno depresivo mayor y en humanos sin presencia de síntomas depresivos. Sus resultados mostraron que los receptores dopaminérgicos D1, D2 y D4 se expresaron en la amígdala en concentraciones más altas que D3 y D5.

En suma, se postula que la sintomatología depresiva también está ligada al funcionamiento inadecuado de enzimas reguladoras de concentración de monoaminas como es el caso de la monoamino-oxidasa A (MAO-A), debido a que se ha reportado que, en pacientes con un episodio de trastorno depresivo mayor no tratado, la densidad de la MAO-A se encontraba elevada en 34% en comparación con el grupo control (Meyer *et al.*, 2006).

Uno de los tratamientos recurrentes para tratar la depresión, son los antidepresivos. De acuerdo con la clasificación de Alvano y Zieher (2019; Tabla 1), estos fármacos pueden ser moduladores monoaminérgicos, moduladores no aminérgicos y drogas en investigación y desarrollo.

Según Köhler y su equipo de trabajo (2016), hasta la fecha, se han descrito 14 receptores de, algunos incluyen subclases que actúan en regiones diferentes del cerebro y, en ocasiones, con funciones opuestas. A continuación, se enlistan los receptores serotoninérgicos más relevantes en el estudio de la depresión:

1. Receptor 5HT_{1B/D}: Estos dos receptores actúan como autorreceptores en las neuronas 5-HT. Agentes farmacológicos que se unen a estos receptores típicamente bloqueándolos, lo que resulta en una inhibición de retroalimentación negativa y, posteriormente, la liberación más potente de 5-HT presináptica. La vortioxetina, tiene propiedades antagonistas de 5HT_{1B/D}.

2. Receptor 5HT_{2A}: El receptor 5HT_{2A} es de gran relevancia para el sistema motor. Todos los antipsicóticos de segunda generación bloquean el receptor 5HT_{2A} en el sistema nigroestriatal. Los receptores 5HT_{2A} también parecen jugar un papel importante papel en el sistema límbico, donde podrían ser relevantes para tratamiento de la depresión. Algunos antidepresivos como la trazodona, nefazodona y mirtazapina son antagonistas del receptor 5HT_{2A}. El bloqueo del receptor 5HT_{2A} también da como resultado una mejor calidad de sueño.
3. Receptor 5HT_{2C}. La fluoxetina, trazodona y mirtazapina son antagonistas del receptor 5HT_{2C}. Además, una cantidad de antipsicóticos como asenapina, clozapina, olanzapina y quetiapina también muestran antagonismo en el receptor 5HT_{2C}. Posiblemente, el estado de ánimo estabilizador tras la administración de estos antipsicóticos se debe al bloqueo de receptores 5HT_{2C} y el posterior aumento de dopamina y liberación de norepinefrina.
4. Receptor 5HT₃. El receptor 5-HT₃ es un receptor ionotrópico que está asociado con permeabilidad catiónica. Se encuentran en interneuronas GABAérgicas en el tallo cerebral. El antagonismo en los receptores 5HT₃ aumenta la liberación de las monoaminas, el cual es un mecanismo pertinente para el tratamiento de la depresión.
5. Receptor 5HT₇. El receptor 5HT₇ está involucrado en la termorregulación, ritmos circadianos, aprendizaje y memoria, y sueño. El bloqueo farmacológico de los receptores 5HT₇ posibilita la liberación de 5-HT, que también puede contribuir a la eficiencia del antidepresivo. Por ejemplo, el uso de lurasidona para el tratamiento de la depresión bipolar, actúa como un fuerte antagonista en el receptor 5HT₇. En cuanto a los antidepresivos, imipramina, desipramina, fluoxetina y vortioxina también actúan como antagonistas de 5HT₇, aunque con diferentes resistencias.

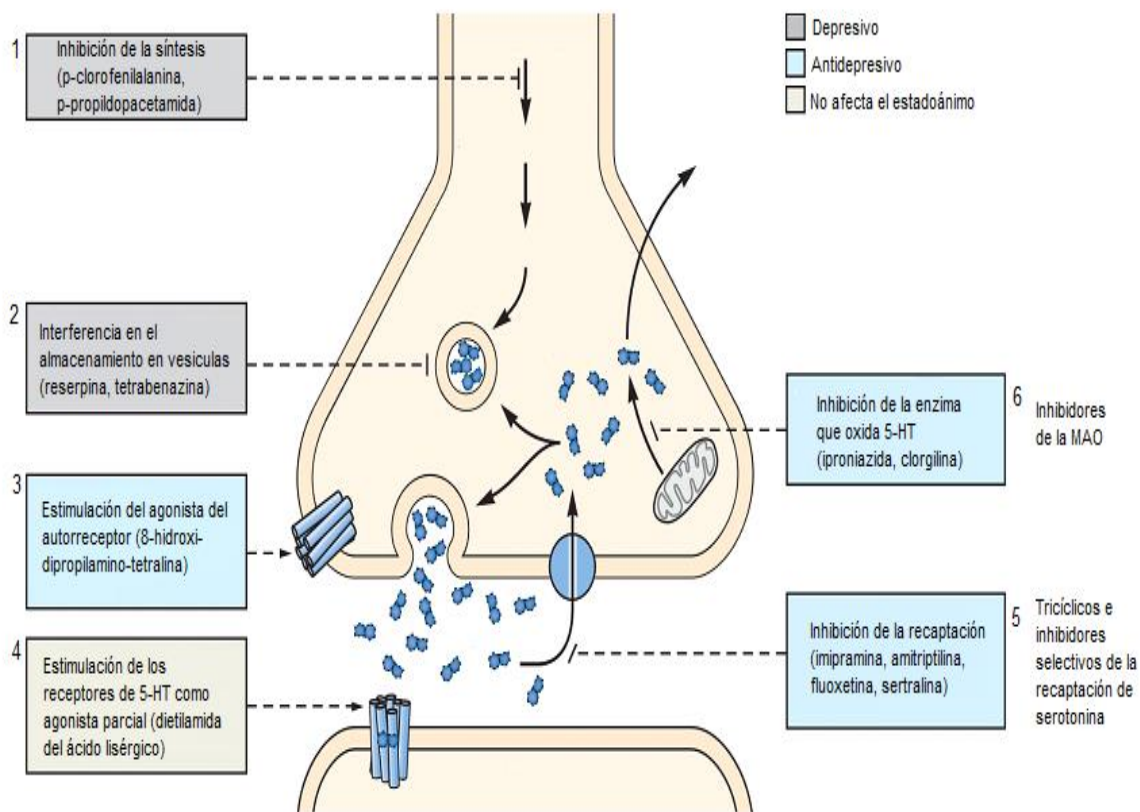


Figura 3. Neurona serotonérgica. Tomado de Kandel, 2012.

Los SSRI tienen una eficacia similar con perfiles de efectos secundarios de menor intensidad que los antidepresivos tricíclicos (McRae y Brady, 2019). La sertralina es un inhibidor potente y selectivo de la recaptura de 5-HT en las neuronas presinápticas del sistema nervioso central, favorece la subsecuente inhibición de la actividad adrenérgica de *locus ceruleus*. La inhibición de la recaptación de 5-HT producida por sertralina, induce la potenciación de la neurotransmisión serotonérgica (Figura 3; Carretero, 2002; Rodríguez-Carranza, 2013).

Comparado con otros ISRS (por ejemplo, la fluoxetina), la sertralina ofrece una mejor tolerancia en el paciente, bajo riesgo de letalidad en caso de sobredosis, y no genera una dependencia potencial, por lo cual es considerada como el tratamiento de primera línea del TDM (McRae y Brady, 2019). No obstante, entre las reacciones adversas consecuentes del tratamiento, se encuentran ansiedad, agitación,

intranquilidad, nerviosismo, visión borrosa, estreñimiento, enrojecimiento de la piel, piel caliente, aumento del apetito y vomito (Rodríguez-Carranza, 2013) y alteraciones en los parámetros de fertilidad (Atli *et al.* 2017).

Antidepresivos de efecto rápido, perspectiva de las sustancias alucinógenas

Cabe aclarar que, a través del tiempo han sido propuestos diferentes nombres para referirse las sustancias alucinógenas; los términos más populares son “alucinógeno”, “psicotomimético” y “psicodélico”. Ahora bien, recientemente ha habido un movimiento en círculos no científicos que solicitan el reconocimiento de estas sustancias para provocar experiencias místicas, de carácter espiritual. De ahí el retorno del término “enteógeno”, que significa “dios dentro”. Aunque parezca improbable la aceptación del uso de “enteógeno” (debido a su connotación), ha tenido una amplia aprobación por aquellos que usan estas sustancias recreativamente. El término “alucinógeno” es el más usado en la literatura científica, a pesar de que no han sido descritos con exactitud los efectos de estas sustancias (Nichols, 2004, 2016).

Retomando, el uso de antidepresivos convencionales para tratar la depresión tiene serias limitaciones relacionadas con las bajas tasas de eficiencia del tratamiento, aunado a que deben la medicación deber ser por largos periodos pues requiere semanas para producir efectos en los síntomas depresivos (Duman, 2018)

La capacidad de estudiar cuantitativamente el efecto del comportamiento de sustancias alucinógenas (a través de la prueba de cabeceo en roedores, por ejemplo), permiten estudios clínicos de su beneficio terapéutico potencial para el TDM. La psilocibina (4-fosforiloxi-N,N-dimetiltriptamina) y la psilocina (4-hidroxi-N,N-dimetiltrptamina) son alcaloides bioactivos provenientes de hongos alucinógenos, su función principal es la activación del receptor 5-HT_{2A} (Nichols, 2016). De hecho, la psilocibina, fue usada para estudiar la esquizofrenia.

Conjuntamente, se postuló que la psilocibina en la sangre inhibe la 5-HT, y la ausencia de este neurotransmisor favorece una etapa psicótica temporal y anormal con alucinaciones que desaparece cuando los niveles de 5-HT no inhibida se reestablecen por procesos bioquímicos corporales (Misra & Deshmukh, 2009).

A pesar de que la investigación científica y médica en esa área era prometedora, fue detenida en vista del abuso en la ingestión y la inhalación de sustancias volátiles provenientes de los hongos alucinógenos por los jóvenes sin conocimiento de su uso tradicional, favoreciendo su vulgarización. Situación que orilló a los gobiernos de varias regiones del mundo (entre ellas, Europa, Japón, Canadá, y países de América del norte y Centroamérica) a introducir normas destinadas a la prevención del uso, el comercio, el cultivo y su distribución (Misra & Deshmukh, 2009). Empero, en la última década se han reanudado la investigación a través de los ensayos clínicos con el uso de alucinógenos en el tratamiento de la angustia y depresión en pacientes con un estado avanzado de cáncer y en el tratamiento de las adicciones, incluyendo el alcoholismo y la adicción a la nicotina (Halberstadt et al., 2017).

De acuerdo con Nichols (2004), las sustancias alucinógenas están clasificadas, de acuerdo con su estructura, en fenilalquilaminas y triptaminas. A su vez, las triptaminas se subdividen en dos categorías de acuerdo con el grado de flexibilidad conformacional, las triptaminas simples (sirva de ejemplo DMT, 5-metoxi-DMT y

psilocibina (Figura 5), las cuales presentan una alta flexibilidad conformacional); y las ergolinas (LSD (Figura 5) y compuestos relativamente rígidos).

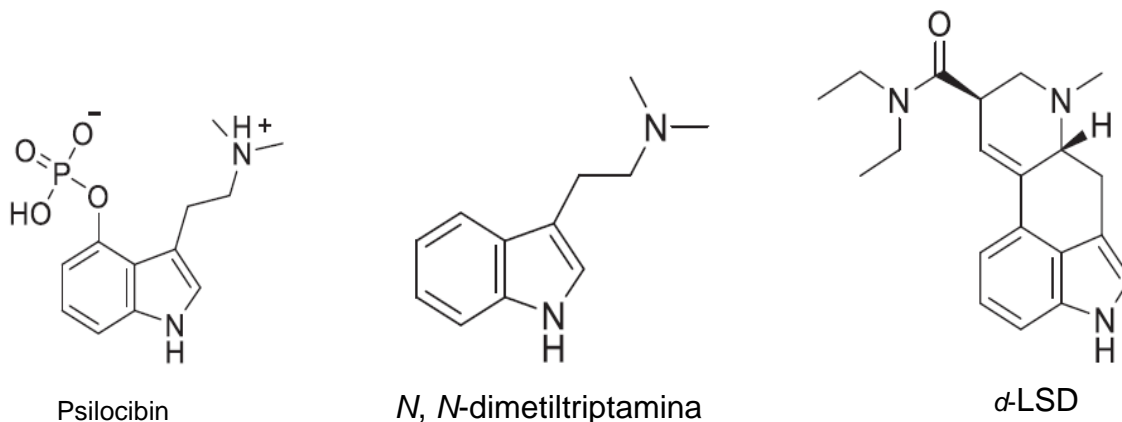


Figura 4. Estructuras de algunos psicodélicos que han sido estudiados en pacientes con TDM (Tomado de Witkin, 2018)

Hongos alucinógenos, *Psilocybe cubensis*

Teniendo en cuenta que los hongos alucinógenos no siempre producen alucinaciones y la evidencia histórica de la práctica del consumo de hongos en México, obtuvieron la atención de laboratorios químicos alrededor del mundo. Los primeros estudios en los años 60 estuvieron dirigidos al estudio del efecto de los componentes aislados de los hongos alucinógenos (Misra & Deshmukh, 2009).

En el presente, la práctica tradicional ha sido retomada, lamentablemente con fines comerciales, por las comunidades indígenas restantes, como los mazatecos, chinantecos, chatinos, mixes, zapotecos, mixtecos, nahuas, otomíes y tarascos distribuidos a lo largo del país. Sólo en las ceremonias nativas de México se usan hongos con psilocibina, no obstante, la especie del hongo usada varía de acuerdo con la región geográfica (Guzmán, 2016; Evans Schultes et al., 2000). Conviene subrayar que los hongos utilizados pertenecen a los géneros *Agrocybe*, *Conocybe*, *Galerina*, *Inocybe*, *Mycena*, *Panaeolus*, *Pluteus* y, sobre todo, *Psilocybe*.

Dentro del género *Psilocybe* se han caracterizado aproximadamente 230 especies de las cuáles, al menos, 54 están distribuidos en territorio nacional. Destacan *P.*



Figura 5. *Psilocybe cubensis*

semilanceata, *P. mexicana*, *P. aztecorum*, *P. Cubensis* y *P. Caerulescens* (Carod-Artal, 2015).

Psilocybe cubensis (Figura 6) fue reportado primeramente en 1906 en Cuba por Earle, y nombrado *Stropharia cubensis* Earle (1906). Tiempo después, fue removido al género *Psilocybe* (Singer & Smith, 1958), ya que posee características como su calidad de alucinógeno, carencia de chrysocystidia y reacción azulada al tacto (Jackson & Alexopoulos, 1976).

Pertenece al reino Fungí, división Basidiomycota, clase Agaricomycetes, orden Agaricales, familia Strophariaceae y al género *Psilocybe* (Recuperado de

http://gcm.wfcc.info/speciesPage.jsp?strain_name=Psilocybe%20cubensis, sitio web del Global Catalogue of Microorganisms).

Se trata de un hongo coprófilo, su reproducción es a lo largo del año dependiendo del grado de humedad. En cuanto a las características morfológicas macroscópicas de *P. cubensis* (Figura 6), Stamets (1996) apunta que el píleo va de 1.5-8 cm de ancho, con forma cónica-campanulada, a veces con umbo agudo que con el transcurso del tiempo llega a ser plano, es de color marrón rojizo que se desvanece

hacia los bordes hasta tornarse blanco, el velo universal deja remanentes en el píleo y la superficie es viscosa y tras la manipulación la estructura sufre un cambio de coloración a azul-verdoso. Lamelas próximas entre sí de color pálido grisáceo en cuerpos fructíferos jóvenes, mientras que en los cuerpos fructíferos adultos son de color grisáceo-purpura. El píleo mide 4-15 cm x 5-15 mm, de color blanquecino-amarillo. Las esporas son de aproximadamente 11.5-17 μm x 8-11 μm .

Zhuk (2015), reporta una mayor concentración de psilocibina en extractos metanólicos de *Psilocybe semilanceata* y *Pholiotina cyanopues* y, en menor concentración, norbaesocistina, baeocistina y psilocina. Así como actividad biológica similar con el uso de psilocina sintética comparado con los extractos metanólicos.

Por lo que se refiere al contenido de psilocina/psilocibina en el extracto metanólico de *P. cubensis*, Tsujikawa y su equipo (2003) reportan 0.17–0.78%/0.44-1.35% en el píleo, 0.09–0.30%/0.05–1.27% en el estípite, y 0.14-0.42%/0.37-1.30% en todo el cuerpo fructífero.

Estudio del efecto de sustancias psicoactivas en animales

Generalmente es aceptado que los efectos de los alucinógenos estudiados a través del comportamiento son mediados por la activación del receptor 5-HT_{2A} en animales y en humanos (Vollenweider & Geyer, 2008).

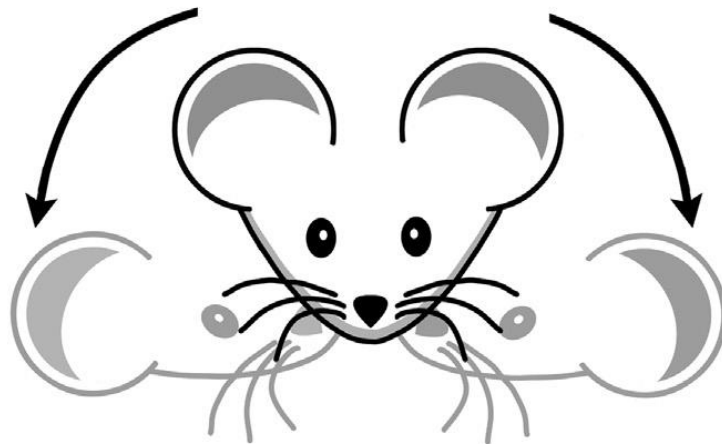


Figura 6. Head Twich Reponse (HTR)

Un ensayo *in vivo*, ampliamente usado, para estudiar la farmacología de la actividad del receptor 5-HT_{2A}, es la respuesta de cabeceo en roedores. Se trata de una prueba de comportamiento que consiste en el análisis del movimiento rotacional rápido (altamente rítmico) de la cabeza de lado a lado (la media de la frecuencia de la respuesta de cabeceo es de 90.3 Hz; Figura 7) como consecuencia de la activación cortical de los receptores de 5-HT_{2A}. Este comportamiento ocurre consecuentemente a la administración de alucinógenos serotoninérgicos y algunos agonistas de 5-HT_{2A} (Halberstadt & Geyer, 2013).

La respuesta HTR se ha observado en ratones tras la administración de dietilamida de ácido lisérgico (LSD), 2 5-dimetoxi-4-iodoamfetamina (DOI), 5-hidroxitriptofano, mescalina, lisurida y psilocibina (Halberstadt & Geyer, 2013; Nichols, 2016). Recién se reportó que las N-bencilfeniletilaminas como una nueva clase de alucinógenos serotoninérgicos (por ejemplo, 251-NBOMe, 25C-NBOMe y 25D-NBOMe) que presentan una mayor afinidad al receptor 5-HT_{2A} en comparación con las feniletilaminas comunes. Consecuentemente, también inducen HTR en ratones (Halberstadt & Geyer, 2013).

Estudio de la depresión en animales

Modelos animales de depresión

El estudio de trastornos neuropsiquiátricos a través de la implementación de modelos animales se ve comprometido por la subjetividad de la sintomatología referente a los estados anímicos y a la falta de marcadores moleculares. A pesar de lo anterior, el desarrollo considerable de modelos animales depresivos ha sido fundamental para comprender la fisiopatología y desarrollo de nuevos fármacos. Si bien, los criterios aprobatorios de un modelo de depresión incluyen la validación etiológica (es decir que el trastorno neuropsiquiátrico sea generado a partir de factores causales similares a los humanos), validación farmacológica (que los síntomas propios del estado neuropsiquiátrico puedan ser revertidos a través de la administración de antidepresivos), y validación aparente (que el organismo presente un grado de homología considerable sintomática); no son puntos de validez absolutos debido a que involucran fallas, entre las más desatacadas se encuentra el riesgo de antropomorfización excesiva (Nestler, y Hyman, 2010).

Modelos de estrés agudo

El modelo de indefensión aprendida consiste en exponer a roedores a choques eléctricos ineludibles, es decir a estrés inevitable, para que desarrollen un estado "indefensivo" de modo que, en una segunda sesión de choques eléctricos con una salida de escape disponible, los animales mostrarán una mayor latencia de escape o no escapan completamente. Puesto que el modelo es muy variable en la expresión de la impotencia y que los efectos tienen una duración de alrededor de 2-3 días, al exponer al organismo a dos o más sesiones se ha observado que las ratas tienden a perder peso y sufrir alteraciones en el patrón de sueño, pero los déficits de escape son revertidos por la administración de antidepresivos (Nester, 2011; Porsolt et al., 1991; Seligman & Rosellini, 1975).

Modelos de estrés crónico

En el modelo de estrés leve crónico (ELC) es necesario exponer al organismo a un conjunto de tensiones físicas frecuentes en un periodo de tiempo prolongado para causar cambios en el comportamiento paralelos a los síntomas depresivos. Los estresores aplicados en este protocolo incluyen los siguientes: iluminación intermitente, privación de agua y alimento, inclinación de la caja a 45°, luz estroboscópica (2 Hz) y jaula mojada (Papp, 1996; Subiabre, 2012).

Se ha reportado la pérdida de interés a actividades placenteras cuantificado a través de la ingesta de sacarosa. No obstante, el modelo ELC ha sido fuertemente criticado debido a la ineficiente reproductibilidad debido a modificaciones de diseño (Willner, 2005).

A diferencia del modelo ELC, para desarrollar el modelo de estrés social crónico es fundamental permitir la interacción social y física de dos o más organismos (ratas, ratones o musarañas) para que uno pueda alcanzar el estado dominante y el resto sean subordinados. El costo del desarrollo del modelo es elevado, además, un punto fuertemente criticado es la subjetividad del conocimiento de la cantidad de comportamiento agresivo ideal (Nester, 2011).

Estrés en la vida temprana: separación materna

El modelo de estrés en la vida temprana (EVT) a través de la separación materna durante el periodo postnatal temprano resulta en cambios cognitivos y emocionales que persisten hasta la edad adulta (Nester, 2011), además la interacción de factores genéticos con un ambiente estresor en la infancia puede ser un predictor de la atrofia en áreas cerebrales implicadas en la depresión y en su aparición en la etapa adulta (Deussing, 2006; Diaz Villa & González González, 2012).

Por mucho tiempo, los estudios en este campo del conocimiento han estado dirigidos al papel que desempeña el eje HPA, a pesar de lo cual, recientemente se

ha demostrado que el paradigma de la separación materna goza de un diseño idóneo para estudiar formas epigenéticas de neuroplasticidad, así como los mecanismos por los que el estrés en la vida temprana puede promover la resiliencia (capacidad que tiene una persona para superar circunstancias traumáticas como la muerte de un ser querido, un accidente) durante la etapa adulta de los organismos (Nester, 2011).

Pruebas de conducta en modelos animales de depresión

La pérdida de interés en acciones placenteras es un síntoma fundamental en la depresión, sobre el cual se pueden poner a prueba hipótesis neurobiológicas, por lo que es un objetivo atractivo para la investigación en modelos animales (Nester & Hyman, 2010). La anhedonia en roedores se evalúa a través de la cuantificación del consumo de solución diluida (1-2%) de sacarosa o autoestimulación craneal (Deussing, 2006).

La prueba de nado forzado (PNF) y la prueba de suspensión de cola (PSC) son usadas para inferir un comportamiento similar al depresivo y para caracterizar los efectos de fármacos antidepresivos. La PNF consiste en colocar un ratón o rata en un cilindro de agua ineludible y eventualmente, después de un periodo de lucha, natación y escalada, exhibe una postura flotante e inmóvil. Por su parte, la prueba TST permite cuantificar cuánto tiempo son inmóviles los roedores mientras se encuentran suspendidos, como no requiere agua no se confunde con procesos termoregulatorios (Nester, 2011).

Se ha demostrado la capacidad de la prueba PNF de Porsolt, para detectar un amplio espectro de sustancias con eficacia antidepresiva tras reducir la duración de inmovilidad. En este paradigma la inmovilidad se interpreta como una estrategia pasiva de afrontamiento del estrés o comportamiento similar a la depresión (Deussing, 2006; MacQueen et al., 2003).

Planteamiento del problema

Los antidepresivos convencionales (mecanismos de aminas biogénicas) no son completamente eficaces puesto que los síntomas depresivos permanecen después del tratamiento y no todos los pacientes responden. Además, producen efectos solo después de semanas de dosificación diaria y no ayudan a mitigar todos los síntomas de la enfermedad (Witkin, 2018).

Actualmente, y tras algunos estudios pioneros en el tema de las investigaciones con alucinógenos (Carhart-Harris *et al.*, 2017; Griffiths *et al.*, 2016) se ha propuesto que la psilocibina es una herramienta farmacológica potencial para el tratamiento de la depresión. Las observaciones clínicas sobre la administración de sustancias originadas a partir de hongos alucinógenos, como es el caso de *P. cubensis*, indican un alto potencial terapéutico y la posibilidad de usar sustancias alucinógenas como alternativa para tratar trastornos neuronales, como la depresión y la ansiedad. Como se afirmó previamente, la condición depresiva es una causa incapacitante importante a nivel mundial ya que afecta a mujeres y a hombres en algún momento durante la vida. El estudio de mecanismos fisiopatológicos a través de modelos de estrés psicosocial puede ser aplicados en machos y hembras, es por lo que es una herramienta ideal para tales estudios (Nester, 2011).

En México la depresión es uno de los factores asociados a la falta de adherencia al tratamiento en pacientes con Diabetes mellitus tipo II. Además, esta condición podría afectar el control glucémico, favorecer el aumento de la obesidad e incrementar las complicaciones asociadas al daño del organismo debido a la falta o exceso de alimentación, que forma parte de la sintomatología depresiva (Sánchez-Cruz *et al.*, 2016). A pesar de la efectividad de las intervenciones disponibles para abordar el cuadro depresivo, el TDP continúa siendo subtratado en México (Lara 2010).

Justificación

Khoury y su equipo (2006), reportan que la separación maternal temprana en ratas macho *Flinders Sensitive Line* (FSL) y en sus controles, las ratas *Flinders Resistant Line* (FRL) resulta en la pérdida de peso corporal de los individuos del grupo FSL y una menor duración de la natación con respecto al grupo FRL. La administración de 25/mg/kg de escitalopran por 30 días en ratas deprimidas no tuvo efectos en las ratas FRL, pero aumentó la duración de nado en ambos grupos, y revirtieron las anomalías conductuales provocadas. En adición, se ha reportado que el tratamiento crónico con desipramina (15 mg/kg por 13 días) disminuye el tiempo de nado durante la PNF, además de una disminución significativa en los niveles de factor neurotrópico en giros dentados y en regiones CA3 hipocampales con respecto al grupo control (MacQueen et al., 2003).

Rodríguez-Carranza (2013) reporta que el efecto del tratamiento con sertralina es evidente de dos a cuatro semanas después de iniciado el tratamiento. No obstante, en 2016, Pereira-Figueiredo encontró que la administración intraperitoneal de 5 mg/kg/día, diluida en un volumen de 1 ml de solución salina, durante 8 días muestra los siguientes efectos:

Diferencias significativas en la amplitud del reflejo auditivo de sobresalto en hembras y machos previamente estresados por restricción, y no estresados. El peso corporal se usó como covariable.

En los grupos de animales que no reciben tratamiento intraperitoneal los valores del porcentaje de inhibición de prepulso (PPI) prácticamente no se modifican en ambos sexos, mientras que en los animales inyectados con suero salino la PPI aumenta, independientemente de que los animales hayan sido previamente estresados o no. El tratamiento con sertralina revierte ligeramente el efecto pinchazo en los machos, y de manera más evidente en las hembras.

El tratamiento intraperitoneal con sertralina durante 8 días no induce cambios significativos en el incremento del peso de los animales de ambos sexos, aunque en los machos (estresados o no), el tratamiento con sertralina induce una ligera pérdida de peso.

Recientemente, Pereira-Figueiredo y colaboradores (2017), demostraron que la exposición a estrés de la madre durante la última semana de gestación por exposición a luz brillante durante 45 minutos por tres veces al día marcó la vulnerabilidad en la progenie (machos y hembras) para desarrollar un comportamiento depresivo tras la exposición a choques eléctricos inescapables. Además, demostraron también que el tratamiento oral crónico con sertralina (5.0 mg/kg/día, por tres meses) actúa diferente en machos y hembras ya que, tras la dosificación y la exposición a choques, se observó un mayor comportamiento defensivo en machos que en hembras, pero mostró una mayor disminución en la respuesta vocal y de salto ante el estímulo eléctrico en hembras comparado con los machos, al igual que la duración del comportamiento defensivo.

Cabe considerar, por otra parte, que la psilocibina representa un paradigma prometedor para la depresión que justifica una mayor investigación en ensayos de control aleatorio doble ciego, la basta literatura evidencia su eficiencia para tratar condiciones neuropsiquiátricas (Carhart-Harris & Goodwin, 2017; Grob et al., 2011; Johnson et al., 2015; Ross et al., 2016), se tiene registro de que la administración en pacientes con síntomas depresivos de dos dosis únicas (10 y 25 mg) reduce los síntomas depresivos desde la primera semana posterior a la aplicación de la dosis pequeña y se observaron reducciones evidentes durante las primeras 5 semanas, además los resultados permanecieron positivos hasta los 6 meses (Carhart-Harris et al., 2017).

Los estudios de la toxicidad aguda de extractos de hongos que contienen psilocina y otros alcaloides mostraron una actividad biológica similar a la observada tras la

aplicación de psilocina sintética, basado en el análisis de la respuesta de cabeceo para evaluar el efecto de los factores psicotrópicos estudiados en el sistema serotoninérgico. No hay un efecto tóxico tras una administración peritoneal de una dosis única de 280-300 mg/kg del extracto *Pholiotina cyanopus* y 250-280 mg/kg del extracto metanólico de *Psilocybe semilanceata*. Los valores de LD50 (mg/kg) del efecto letal en ratones son 316.87 ± 1.63 del extracto de *Ph. cyanopus*; 324.37 ± 2.04 del extracto de *P.semilanceata*; mientras que para la psilocina el valor es de 293.07 ± 1.02 . La comparación de los valores de LD50 de la psilocina sintética con respecto a los extractos fúngicos arrojó que no hay una diferencia significativa estadísticamente ($p < 0.001$). El comportamiento observado de los agentes alucinógenos probados indica un alto potencial terapéutico y la posibilidad de utilizar este tipo de fármacos como una alternativa en el tratamiento de los trastornos del estado de ánimo y la ansiedad. La preparación cuidadosa y la conducción de estudios bien controlados en esta área contribuirán a un mayor conocimiento de la influencia de las sustancias alucinógenas en el funcionamiento del sistema nervioso central (Zhuk et al., 2015).

Por lo que se refiere a los estudios actuales, es evidente que los reportes corresponden a tratamientos en humanos: la disminución de ansiedad, el aumento en el estado de ánimo y la posterior inclusión social se logran con el uso de sustancias alucinógenas añadido al acompañamiento psicológico constante. A pesar del conocimiento actual, la administración de hongos alucinógenos no está validada aún en modelos animales de laboratorio. Razones por las cuales, estudiar el efecto del extracto metanólico de *P. cubensis* en el tratamiento de anhedonia y desesperación conductual en un modelo de depresión por estrés temprano en ratas macho es el objetivo principal de este proyecto.

Objetivo general

Estudiar el efecto del extracto metanólico de *P. cubensis* en el tratamiento de anhedonia y desesperación conductual en un modelo de depresión por estrés temprano en ratas macho.

Objetivos particulares

1. Confirmar la presencia de conductas de tipo depresivo (desesperación conductual con respecto a los controles) a través de la prueba de nado forzado, tras haber generado el modelo de estrés temprano por separación materna.
2. Comparar el efecto de la administración del extracto metanólico de *P. cubensis* con la administración de sertralina (un fármaco antidepresivo reconocido) durante el protocolo de desesperación conductual en ratas deprimidas macho.
3. Comparar el efecto de la administración del extracto metanólico de *P. cubensis* con la administración de sertralina, durante el protocolo de anhedonia en ratas deprimidas macho.
4. Analizar la duración del efecto del tratamiento con el extracto metanólico de *P. cubensis* y con sertralina sobre las conductas de desesperación conductual en ratas deprimidas macho.

Hipótesis

Si se administra el extracto metanólico de *P. cubensis* en ratas macho de un modelo de depresión por estrés temprano entonces presentarán una disminución de anhedonia y desesperación conductual.

Metodología

Diseño experimental

Los animales de experimentación tuvieron acceso *ad libitum* de comida y agua, con ciclo luz-oscuridad (12-12) y temperatura constante de 22°C.

Ocho ratas gestantes Sprague-Dawley a punto de parto fueron solicitadas al bioterio Claude Bernard, BUAP. Posterior al nacimiento, se designaron a cada tratamiento 8 ratas y se colocaron 2 o 3 ratas por caja, evitando que más de 2 pertenezcan a la misma camada.

A partir del DPN (Día Posnatal, del inglés *Post Natal Day*) se tomó el peso de cada organismo, diariamente hasta el fin del proyecto. De manera simultánea, se comenzó la generación del modelo de estrés temprano el cual finalizó el DPN22, el destete de la progenie se realizó en el DPN 22.

Las primeras pruebas de comportamiento para confirmar la presencia de conductas asociadas a depresión se programaron para el DPN 39, en los siguientes grupos, cada uno conformado por 8 ratas macho:

1. Ratas no deprimidas (TA).
2. Ratas deprimidas con un modelo de estrés temprano crónico por separación materna (DEP).
3. Ratas deprimidas con un modelo de estrés temprano crónico por separación materna, tratadas durante 15 días con 0.1 mg/kg de SSI + 3% de Tween 80 (DEP+VH).
4. Ratas deprimidas con un modelo de estrés temprano crónico por separación materna, tratadas durante 15 días con 0.1 mg/kg del extracto metanólico de *P. cubensis* con de SSI + 3% de Tween 80, como vehículo (DEP+EXTR).

5. Ratas deprimidas con un modelo de estrés temprano crónico por separación materna, tratadas durante 15 días con 5.0 mg/kg/día de sertralina con de SSI+ 3% de Tween 80, como vehículo (DEP+SERT).

La administración del extracto metanólico de *P. cubensis*, de sertralina y de SSI + 3% de Tween 80 inició en el DPN 45 y finalizó en el DPN 60. Al concluir la dosificación, se realizó la prueba PNT inmediatamente. Posteriormente, se efectuaron una semana después del fin del periodo de administración, y finalmente cada 15 días durante 2 meses, hasta el DPN 127.

La evaluación del consumo de sacarosa fue programada para los DPN 43-45 y DPN 132-134.

El método de eutanasia fue la sobredosis de pentobarbital sódico al 6.5%. Las ratas fueron dosificadas con 2 ml por cada 1000 g de peso corporal el fin de evitar el sufrimiento de los animales.

Los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y uso de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). Para conocer tal norma, la alumna tesista debió aprobar y obtener el certificado del curso de manejo de animales de laboratorio que oferta el Bioterio "Claude Bernard", previo a la ejecución de proyecto; con la finalidad de garantizar el menor sufrimiento posible a los animales durante la manipulación y sacrificio.

Crterios de inclusión

Las características que debieron cumplir los animales para ser tomados como sujetos de estudio fueron las siguientes:

- Tener un peso corporal entre mayor o igual a 30 g al momento del destete

- Ser del sexo masculino.
- Gozar de buen estado de salud. Debido a que el comportamiento principal que indica depresión en animales son los episodios de inmovilidad, fue fundamental que cada animal en el que se realizó el protocolo de separación materna presentara por lo menos un episodio de inmovilidad con una duración de cinco segundos en la prueba de nado forzado confirmatoria (DPN 39).

Criterios de exclusión

Rasgos que pudo presentar algún organismo para considerar al sujeto no apto como elemento de estudio

1. Peso corporal menor a 30 g al momento del destete.
2. Poseer sexo femenino.
3. Presencia de problemas de salud ajenos a los involucrados en el experimento tales como cromodaciorrea (lágrimas rojas), epífora (lagrimeo excesivo), malestar físico, pérdida repentina de peso.
4. No presentar episodios de inmovilidad durante la prueba de nado confirmatoria (DPN 39).

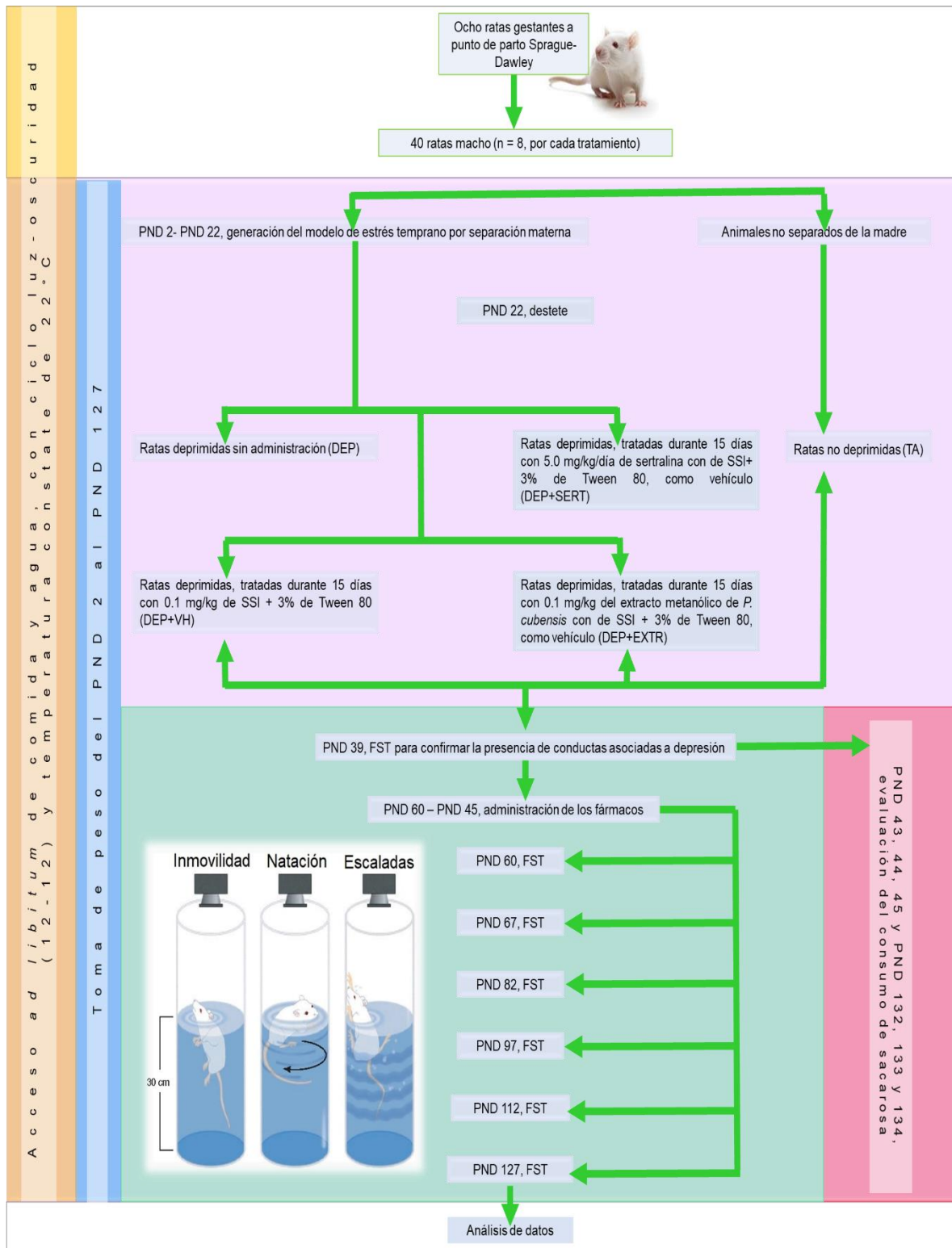


Figura 7. Diseño experimental del proyecto

Obtención del extracto metanólico de *P. cubensis*

Los cuerpos fructíferos *P. cubensis* se obtuvieron del Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles, a cargo del D. C. Omar Romero Arenas perteneciente al Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). La extracción se realizó de acuerdo con Zhuk y colaboradores (2015). Como primer paso se deshidrataron 150 g de cuerpos fructíferos con aire frío durante 3-4 días; es decir aproximadamente 15 g de material seco. Después los cuerpos fructíferos fueron pulverizados para someterlos a extracción metanólica por 24 h, en una proporción de 50 ml de metanol/0.5g de material seco. Se decantó y se dejó secar completamente (2-3 días) y el proceso se repitió 2 veces más. El sobrenadante se secó con la ayuda de un rotavapor para evaporar el metanol en el Laboratorio de Fitoquímica, a cargo de la DC. Patricia Guevara Féfer, de la Universidad Nacional Autónoma de México (Ver Anexo 1).

Generación de sintomatología depresiva en ratas

A pesar de que se han desarrollado modelos animales con genotipo depresivo, las ratas albinas *Sprague-Dawley* (SD) pueden considerarse el "estándar" de roedores de investigación animal, dentro del contexto de los paradigmas de comportamiento, las SD generalmente se seleccionan para pruebas de comportamiento como el estrés de restricción crónica, estrés crónico impredecible o manipulación genética. Estas ratas son de fácil de manejo, y responden bien a la manipulación y realización de tareas de comportamiento (Wang *et al.*, 2017).

La separación materna se llevó a cabo durante el DPN2-DPN21, por remoción de la madre de las crías durante 3 h/día (MacQueen *et al.*, 2003), el procedimiento de describe a continuación.

Protocolo del modelo de separación materna neonatal, de acuerdo con Khoury *et al.*, 2006.

1. El DPN 2 se separó a la madre de su caja y se le colocó en otra caja limpia. Es importante frotar un puñado de la cama entre las manos para mantener el olor de la caja hospedera.
2. Fue agregado de 1-2 cm de cama de la caja hospedera a otra caja asignada a las crías que se separarán.
3. Cuidadosamente, todas las crías de la misma camada fueron colocadas en el mismo contenedor o caja en el que permanecerán por 180 minutos. Se emplearon cajas de unicel de 15 cm x 15 cm y una manta para mantener una temperatura entre 30° C – 33° C.
4. Después de finalizar el periodo de separación establecido, la madre fue removida del contenedor secundario y fue regresada a su caja hospedera.

Este procedimiento fue repetido para cada camada durante el ensayo de separación materna hasta el DPN 21. Las camadas fueron ajustadas a 8 individuos, conservando todos los machos y completando el grupo con las hembras. Se usó la misma caja para cada camada durante el proceso de separación.

En el DPN22 se realizó el destete de crías en los siguientes grupos: DEP, DEP + VH, DEP + EXTR y DEP + SERT. Se colocaron en cajas completamente limpias con alimento y agua. No se permitió que más de una cría, de la misma camada se encontrara en la misma caja.

El grupo TA nació y se hospedó bajo las mismas condiciones que el grupo de la separación materna temprana, pero sin manipulación adicional fuera de su hospedaje animal normal. El peso corporal se registró en todos los animales de los cinco grupos desde el DPN2 hasta el fin del protocolo.

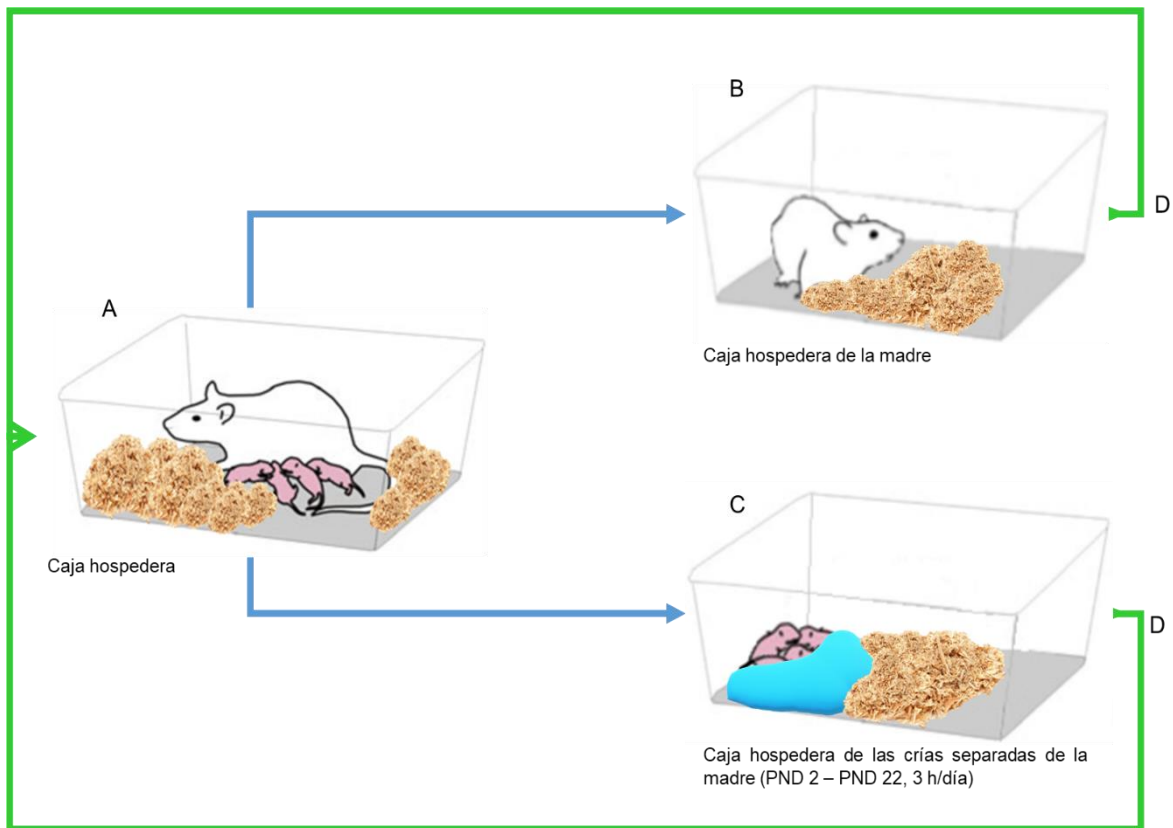


Figura 8. Protocolo de separación materna

Administración de los fármacos

La dosis efectiva de psilocibina para tratar depresión oscila entre los siguientes intervalos: 0.3 mg/kg (Ross *et al.*, 2016), 0.01-0.04 mg/kg (como dosis placebo) y aproximadamente 0.3-0.4 mg/kg (como dosis efectiva; Griffiths *et al.*, 2016) y 0.1 mg/kg y 0.3mg/kg, aproximadamente (Carhart-Harris *et al.*, 2017). Tomando como referencia los valores reportados, se administró por vía intraperitoneal 0.1 mg/kg de extracto metanólico de *P. cubensis* disuelto en SSI + 3% de Tween 80, como vehículo, durante 15 días.

Para determinar la dosis de sertralina se consideró lo reportado por Pereira-Figueiredo y colaboradores (2017). Se administró por vía intraperitoneal 5.0 mg/kg/día de sertralina disuelta en SSI + 3% de Tween 80, durante 15 días.

La administración de SSI + 3% de Tween 80 en ratas con condición depresiva también se efectuó durante 15 días.

Posterior a la dosificación, las ratas permanecieron en un vivario, con acceso *ad libitum* de comida y agua, con ciclo luz-oscuridad (12-12) y temperatura constante de 22°C.

Pruebas conductuales

Las pruebas conductuales para evaluar fueron las siguientes:

Consumo de sacarosa (para evaluar la anhedonia) antes y en el periodo posterior al tratamiento; es decir, durante DPN 39 – DPN 44 y DPN 127-DPN 132. La evaluación del consumo de sacarosa se realizó cada 24 horas, en las instalaciones del bioterio Claude Bernard, BUAP.

Prueba de nado forzado modificado por Slattery y Cryan (2012) antes y posterior a la administración como un marcador para evaluar la desesperación conductual durante 2 meses. La evaluación se llevó a cabo en el DPN39, DPN 60, DPN 67, DPN 82, DPN 97, DPN 112 y DPN 127; en un horario de 7:00-11:00 a.m., en las instalaciones del laboratorio de Neuromodulación, del Instituto de Fisiología, BUAP.

Prueba de anhedonia: preferencia a la sacarosa

El consumo de sacarosa se cuantificó diariamente antes y después del periodo de administración de fármacos en todos los grupos (TA, DEP, DEP + VH, DEP + EXTR, DEP + SERT), durante DPN39–DPN44 y DPN 127-DPN 132. La duración de la

prueba fue seis días, y constó de dos días de habituación y cuatro días de datos efectivos.

De manera independiente, el consumo de agua se debe monitorear diariamente a través del contenido de la botella de agua antes y después de un periodo de 24 horas (Subiabre, 2012). Por lo tanto, en la caja hospedera de los animales de todos los grupos, se colocaron 250 ml de solución de sacarosa al 1% y 250 ml de agua.

La solución de sacarosa fue cambiada diariamente por solución recién preparada para evitar el crecimiento de hongos y bacterias. Para evitar un aprendizaje en los animales, las botellas fueron intercaladas de derecha a izquierda todos días. La medición del contenido (en ml) de solución de sacarosa y de agua consumida en el periodo de prueba, se realizó 24 horas después de la colocación de las botellas, con ayuda de una probeta graduada.

A partir de los datos recabados, se calculó la preferencia de sacarosa / agua se calculó, de acuerdo con Hoffman (2016), como sigue:

$$\text{Preferencia} = \frac{\text{Solución de sacarosa 1\% consumida (ml)}}{\text{Solución de sacarosa 1\% consumida (ml) + agua consumida (ml)}}$$

Prueba de nado forzado (PNF)

La prueba PNF de Porsolt detecta, con amplio espectro, sustancias con eficacia antidepressiva tras reducir la duración de inmovilidad. En este paradigma la inmovilidad se interpreta como desesperación conductual a la estrategia pasiva de afrontamiento del estrés o comportamiento similar a la depresión (Deussing, 2006; MacQueen *et al.*, 2003).

Sin embargo, en la versión modificada por Slattery y Cryan (2012), se toman como comportamientos básicos la inmovilidad, natación y escalada, que permiten analizar

la efectividad de fármacos recapturadores de serotonina. El comportamiento pasivo se traduce en episodios de inmovilidad. Mientras que el comportamiento activo puede ser la natación, que consiste en movimientos horizontales a lo largo del cilindro de natación, incluye cruzar a otro extremo; la escalada se refiere al movimiento hacia arriba de las patas delanteras, usualmente contra el costado del cilindro; y el buceo, el en cual el animal explora el fondo del cilindro para encontrar alguna salida.

Para la prueba PNF modificada por Slattery y Cryan (2012), se usaron cilindros de acrílico transparente, con un diámetro de 20 cm y una altura de 50 cm. Se colocó agua hasta los 30 cm y se mantuvo la temperatura del agua entre los 23-25°C.

La recopilación de datos fue a través de videograbación (video cámara de alta definición, Panasonic®, modelo HC-V130) para monitorear la actividad corporal del organismo. Se sugiere realizar una preprueba 24 horas antes, la cual consiste en registrar 15 minutos de actividad en los cuales se cuantifica el número y tiempo de inmovilidades, escaladas y natación; 24 horas después, se realiza la prueba considerando los comportamientos ya descritos. (Slattery & Cryan, 2012)

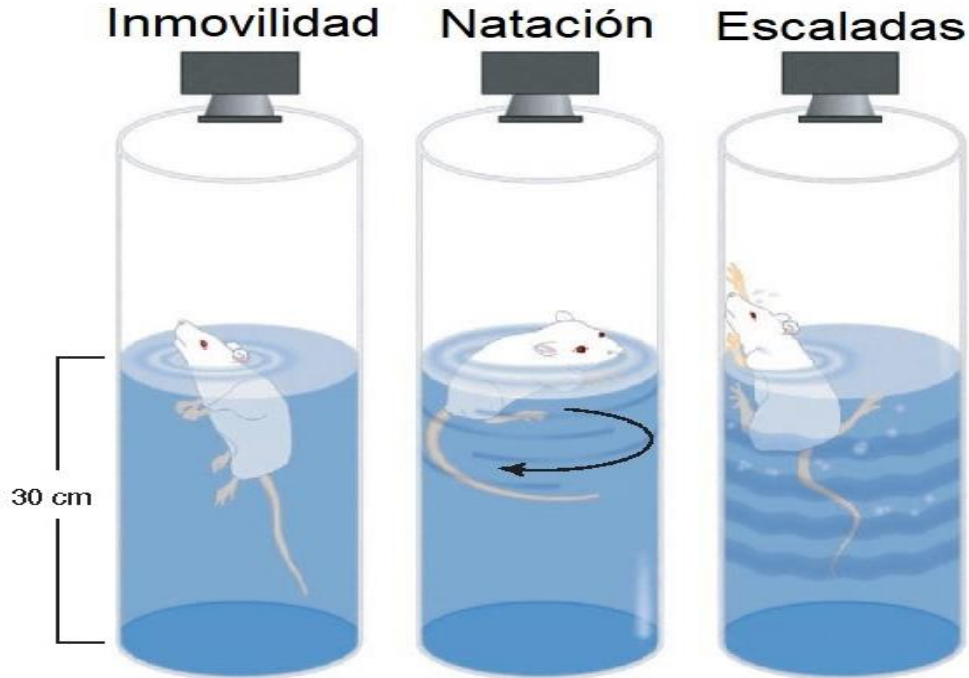


Figura 9. Protocolo de nado forzado

Sin embargo, debido a que uno de los objetivos del proyecto fue medir la efectividad del extracto metanólico de *P. cubensis* y compararlo con el efecto de la sertralina, no se consideró la preprueba con la finalidad de evitar el aprendizaje de los animales puesto que se contemplaron siete episodios de PNF (DPN39, DPN 60, DPN 67, DPN 82, DPN 97, DPN 112 y DPN 127).

Protocolo de nado forzado para roedores (Slattery & Cryan, 2012)

1. Limpiar los cilindros con alcohol para evitar la presencia de cualquier residuo.
2. Llenar los cilindros con agua a 23° C – 25 ° C hasta los 30 cm.
3. Comenzar a videogravar para evitar la pérdida de datos referentes al comportamiento.
4. Colocar al animal de forma tranquila, evitando el mayor estrés posible. Los animales fueron trasladados al laboratorio 24 horas antes de la prueba.
5. Grabar el comportamiento del animal durante 5 minutos.

6. Después de los 5 minutos, sacar con cuidado a la rata del cilindro. Con ayuda de una toalla seca, retirar el exceso de agua en el pelaje del ejemplar y depositarlo en una caja con tiras de papel para absorber la humedad que aún le quedó. Cuando el pelaje del animal se encuentre totalmente seco, trasladarlo a la caja hospedera.
7. Retirar el agua del cilindro, y lavarlo con agua y jabón. Desinfectarlo con alcohol para evitar la presencia de olores en pruebas posteriores.

Los vídeos fueron analizados manualmente y se siguieron las normas establecidas por Slattery & Cryan (2012). El comportamiento, llámese natación, escalada, buceo o inmovilidad, se cuantificó como efectivo si tuvo una presencia de 5 s. Es decir, durante el periodo de prueba se cuantificaron 60 episodios de diferentes comportamientos (Figura 8). También se registró el tiempo de latencia de inmovilidad, natación y escaladas, así como el número de heces generadas en el lapso de la prueba.

Análisis estadístico

Con el objeto de reducir el número de animales de acuerdo con principios básicos de las 3R (reducción, reemplazo y refinamiento), en cuanto al uso de animales de laboratorio, en la presente investigación se optó por trabajar con la n mínima requerida para análisis de conducta, en consecuencia, la distribución de los datos no encaja en la normalidad. Por lo antes expuesto, se hizo necesario usar estadística no paramétrica para analizar los datos obtenidos.

Se empleó la prueba Kruskal-Wallis ($p=0.05$) para conocer si hubo diferencias en los episodios de inmovilidad, escaladas y nado, latencia de cada comportamiento, y número de heces entre los grupos antes mencionados (TA, DEP, DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT) durante los DPN 39, 60, 82, 97, 112 y 127.

Posteriormente, si el valor p de Kruskal-Wallis que se obtuvo fue significativo, se eligió la prueba de Dunn ($\alpha=0.05$) para evidenciar los pares de grupos que fueron distintos.

Uno de los objetivos del presente trabajo fue contrastar la conducta antes y después de la administración en los mismos sujetos. Por esto, fue elegido el análisis de los episodios de inmovilidad, escaladas y nado, latencia de cada comportamiento, y número de heces entre los durante los DPN 39 y 60 a través de la prueba de rango con signo de muestras pareadas Wilcoxon ($p=0.05$)

Con referencia a los datos recabados durante la prueba preferencia de sacarosa, en primer lugar, fueron transformados con la siguiente fórmula:

$$Preferencia = \frac{\text{solución de sacarosa 1\% consumida (ml)}}{\text{solución de sacarosa 1\% consumida (ml) + agua consumida (ml)}}$$

Posteriormente, los datos convertidos fueron analizados a través de la prueba Kruskal-Wallis ($p=0.05$) para conocer si hubo diferencias en el consumo de sacarosa entre los grupos durante los DPN 42, 43, 44, 132, 133 y 134. Enseguida, si el valor p de Kruskal-Wallis que se obtuvo fue significativo, se procedió a realizar la prueba de Dunn ($\alpha=0.05$) para evidenciar los pares de grupos que fueron distintos.

Sumado a lo expuesto, los datos de peso capturados fueron ajustados a un modelo de regresión asintótica, generados en R:

$$f(x) = c + (d - c)(1 - \exp(-x/e))$$

Donde c es el límite inferior ($x=0$), d el límite superior y $e>0$ es la razón de cambio de x .

A continuación, los ajustes se compararon con una prueba F en la forma:

$$F = \frac{((S_M - (S_C + S_T))/k)}{((S_C + S_T)/(N_C + N_T - 2k))}$$

Donde S_M es la suma residual de cuadrados (RSS) para el ajuste de los datos combinados de ambos modelos, S_C es el RSS para el ajuste del grupo de control, S_T es el RSS para el ajuste del grupo probado, N_C y N_T es el número de observaciones para el control y el grupo probado, respectivamente, k es el número de parámetros del ajuste. Esta prueba estadística sigue la distribución F con k y $N_1 + N_2 - 2k$ grados de libertad. La comparación se realizó con la ayuda del paquete de extensión drc (Ritz et al., 2015) para el entorno estadístico R (R Core Team, 2019).

Las gráficas fueron generadas en Origin 9.1 (Microcal Software Inc., North Hampton, MA). Los valores se presentan como la media \pm error.

Resultados

Tras el análisis de los datos capturados durante el protocolo de nado forzado del DPN 39, fue evidente la distinción de dos grupos con respecto a la conducta pasiva (Figura 10; Tabla 4, Anexo 3). Los animales no separados de la madre no presentaron periodos de inmovilidad, mientras que los animales separados de la madre (DEP, DEP+EXTR, DEP+SERT y DEP+VH) presentaron entre 5-15 episodios de inmovilidad (Tabla 13, Anexo 4; $p < 0.001$; $p = 0.01$; $p < 0.001$; $p < 0.01$, respectivamente). Por esta razón, podemos decir que el protocolo de separación materna es viable para generar un modelo de depresión por estrés temprano en ratas.

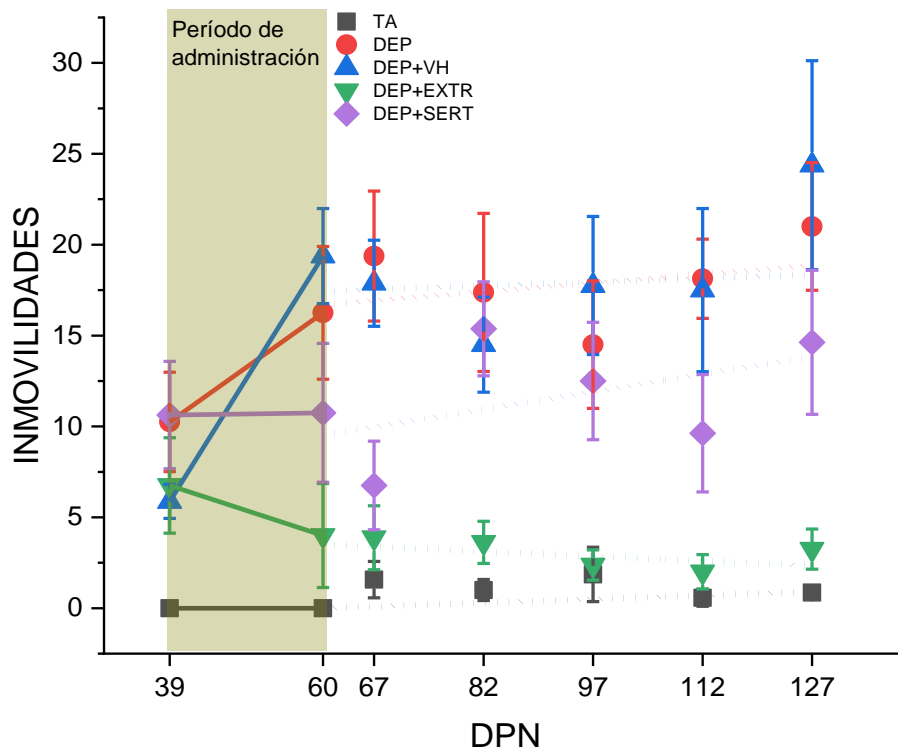


Figura 10. Frecuencia promedio de los episodios de inmovilidad

Al concluir la etapa de administración de fármacos, en el DPN 60, la frecuencia de episodios de inmovilidad fue nula en el grupo TA (Tabla 4, Anexo 3), no obstante, no se reportan diferencias significativas con los grupos administrados con el extracto metanólico de *P. cubensis* y con sertralina ($p=0.27$; $p=0.08$, respectivamente). Cabe señalar que la conducta pasiva fue mayor en los grupos DEP y DEP+VH con respecto a DEP+EXTR ($p=0.01$; $p < 0.01$), DEP+SERT ($p=0.02$; $p=0.02$, respectivamente) y TA ($p < 0.001$; $p < 0.001$).

En cuanto a la comparativa antes y después del tratamiento, los resultados del análisis de los datos muestran que hubo un aumento significativo en los episodios de inmovilidad en los grupos deprimidos con administración de solución salina ($p < 0.01$; $w=0$; Figura 10; Tabla 2, Anexo 2). En adición, aunque no son cambios significativos, se observa una tendencia al incremento de conducta pasiva en el grupo de animales deprimidos sin administración ($p=0.25$; $w=9.5$). Además, la conducta pasiva antes y después del tratamiento con *P. cubensis* ($p=0.38$; $w=25$) y sertralina ($p=0.78$; $w=16$) en ratas deprimidas por separación materna, mantuvo la frecuencia de inmovilidades. Comportamiento observado también en los animales que no estuvieron bajo el protocolo de separación materna ($p=1$; $w=0$).

Posteriormente, en el DPN 67 (Figura 10), se observó el comportamiento expuesto en el DPN 60. Es decir, los episodios de inmovilidades son mínimos en el grupo TA en contraste con los animales separados de la madre sin tratamiento ($p < 0.01$), y con administración de solución salina ($p < 0.001$). Estas diferencias también se reportan en la conducta pasiva de los animales administrados con *P. cubensis* y con sertralina comparadas con los grupos DEP ($p < 0.01$; $p=0.02$, respectivamente) y DEP+VH ($p < 0.01$; $p=0.02$, a correspondencia). El análisis precedente indica que la cantidad de inmovilidades es semejante entre el grupo TA, DEP+EXTR ($p=0.27$) y DEP+SERT ($p=0.08$), tras una semana de haber finalizado el periodo de administración (Tabla 4, Anexo 3; Tabla 13; Anexo 4).

Con referencia al DPN 82, los animales tratados con sertralina, los deprimidos sin tratamiento y los administrados con solución salina mostraron un mayor número de episodios de inmovilidad con respecto a los animales no separados de la madre ($p=0.001$) y los animales deprimidos medicados con *P. cubensis* ($p<0.01$). Debe señalarse que en adelante el patrón de comportamiento observado en el DPN 82, fue similar en el DPN 97, 112 y 127 (Figura 10, Tabla 4, Anexo 3; Tabla 13; Anexo 4).

Resumiendo lo tratado, los periodos de conducta pasiva en los grupos DEP, DEP+VH y DEP+SERT fueron más frecuentes, desde el DPN 60 en adelante, en comparación con los animales no separados de la madre y los en los que se realizó el protocolo de separación tratados con el extracto metanólico de *P. cubensis*.

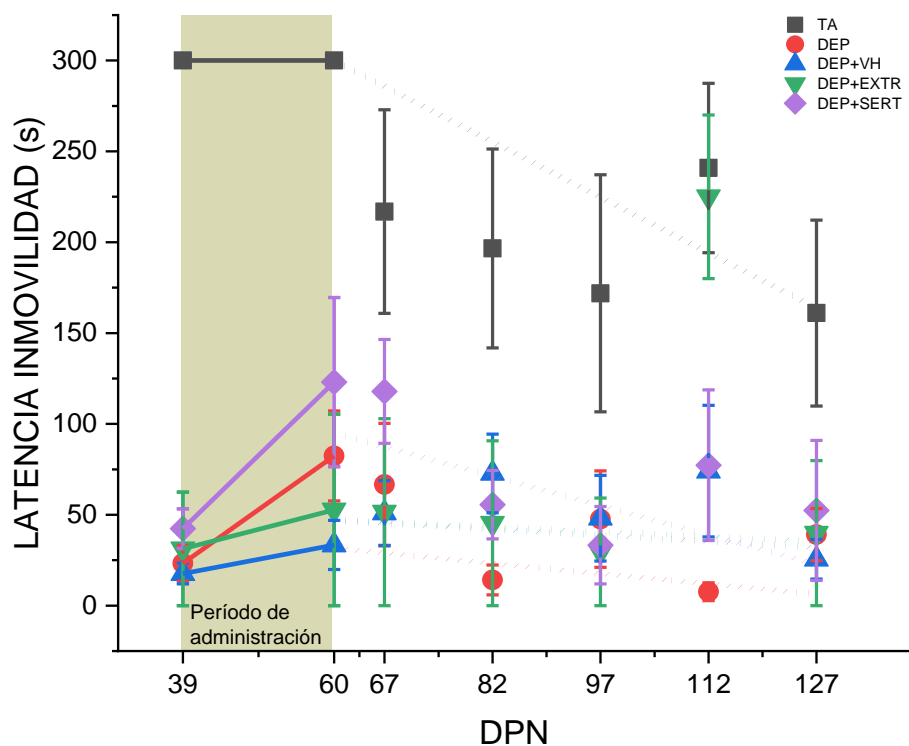


Figura 11. Latencia promedio de los episodios de inmovilidad

Ahora bien, con respecto a los datos del tiempo de latencia de los episodios de inmovilidad, el análisis demuestra que en la prueba de nado confirmatoria del DPN 39 los animales en los que llevo a cabo el protocolo de separación materna (grupos DEP, DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT) iniciaron la conducta pasiva a un tiempo semejante ($p < 0.001$; $p = 0.001$; $p = 0.01$; $p < 0.001$, respectivamente). En oposición a los animales que no fueron separados de la madre, pues no presentaron episodios de inmovilidad, por lo tanto, su tiempo de latencia fue de 300 s (Figura 11; Tabla 7 Anexo 3; Tabla 16, Anexo 4).

Sumado a lo expuesto, el tiempo de latencia antes y después de la administración en los grupos DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT fue similar (Figura 11; Tabla 2, Anexo 2; $p = 0.46$; $w = 9$; $p = 0.14$; $w = 7$; $p = 0.14$; $w = 7$; respectivamente) tampoco se reporta que el tiempo de latencia en los animales no deprimidos fue distinto debido a que no presentaron periodos de inmovilidad durante la prueba de nado forzado (Figura 11; $p = 1$; $w = 0$). Tan solo en el grupo DEP, se aprecia un aumento significativo en el tiempo de inicio de la conducta pasiva ($p = 0.03$; $w = 3$).

Aunque en los DPN 60, 67, 97 y 127 sí se reportan diferencias en la conducta pasiva entre los grupos, el análisis indica semejanza en el tiempo de inicio de los periodos e inmovilidad (Tabla 16, Anexo 4). No obstante, los grupos en los que se realizó el protocolo de separación materna tendieron a comenzar la conducta pasiva en los primeros dos minutos de la prueba de nado forzado en tanto, los animales no deprimidos iniciaron la conducta a partir de los tres minutos en adelante (Figura 11).

En el DPN 82 y 112 el tiempo de latencia de inmovilidad (Figura 11) fue menor en el grupo DEP con respecto a TA ($p = 0.01$; $p < 0.01$), y a DEP+EXTR ($p = 0.03$; $p < 0.01$, respectivamente). Aunado a lo anterior, en el DPN 112 el inicio de la conducta pasiva también fue mayor en TA con respecto a DEP+SERT ($p = 0.02$), y DEP ($p < 0.01$). Del mismo modo que DEP+EXTR vs. DEP+SERT ($p = 0.01$) y con respecto a DEP+VH ($p = 0.05$).

Con respecto a la frecuencia de los episodios de escaladas, en la prueba de nado forzado confirmatorio en el DPN 39 (Figura 12), no hubo diferencia entre los grupos (Tabla 14, Anexo 4). No obstante, el grupo que tendió a tener más intentos de escape fue TA (Tabla 5, Anexo 3).

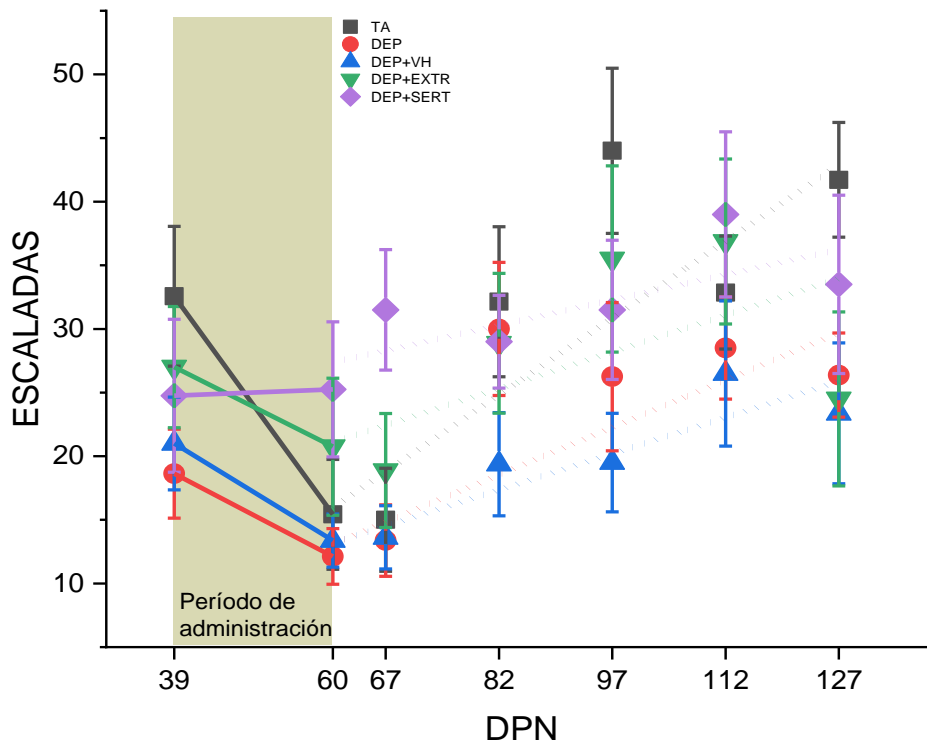


Figura 12. Frecuencia promedio de escaladas

Al terminar el periodo de administración la conducta fue evaluada nuevamente. El análisis de los resultados sugiere diferencias entre los grupos, siendo DEP ($p=0.01$) y DEP+VH ($p<0.0$) los que presentaron un número de menor de intentos de escape a través de escaladas, a diferencia de los animales tratados con sertralina. (Figura 12). Cabe considerar, por otra parte, que los animales sin depresión tuvieron una frecuencia similar comparada con DEP y DEP+VH ($p=0.47$).

Por otra parte, el tratamiento con sertralina y con el extracto metanólico de *P. cubensis* mantuvo la frecuencia promedio de los episodios de escaladas (Figura 12, Tabla 2; Anexo 2; $p=0.31$; $w=26$; $p=0.64$; $w=14$ respectivamente). En los grupos TA y DEP+VH hubo una disminución significativa de los intentos de escape ($p=0.04$; $w=26$; $p=0.05$; $w=32$), mientras que en DEP solamente se observó una tendencia al decremento de este comportamiento ($p=0.08$; $w=30.5$).

Después de una semana de finalizar el tratamiento, los animales deprimidos administrados con sertralina escalaron más que los que sufrieron el proceso de separación materna sin tratamiento ($p=0.01$), con administración de solución salina ($p<0.01$), incluso más que el grupo TA ($p=0.02$).

El análisis de los datos obtenidos en el DPN 82, en adelante, no sugiere diferencias significativas entre los grupos (Tabla 14, Anexo 4). Sin embargo, se sugiere que en todos los grupos hay una tendencia a incrementar la frecuencia de intentos de escape a lo largo del tiempo; siendo los animales sin depresión los que presentaron una cantidad mayor de escaladas, seguidos de los grupos administrados con *P. cubensis* y sertralina, y finalmente DEP y DEP+VH.

Ahora bien, en cuanto al tiempo de latencia de escaladas no se reportan diferencias entre los grupos durante los DPN 39, 60, 67, 82, 91, 112 y 127 (Figura 13; Tabla 17, Anexo 4); en otras palabras, sin importar el tratamiento, los animales iniciaron la conducta pasiva en tiempo similares. Pese a lo anterior, el tiempo promedio de latencia de los animales no deprimidos fue de alrededor de los primeros siete segundos de las pruebas de nado forzado programadas (Tabla 8, Anexo 3) por otra parte, los animales separados de la madre sin tratamiento y con administración de solución salina mostraron una tendencia al incremento del tiempo de latencia a lo largo del tiempo. De igual forma que las ratas deprimidas medicadas con el extracto de *P. cubensis* y sertralina, pero en estos grupos se registró una latencia aproximadamente entre los 19-34 s a lo largo de todas las pruebas.

Tampoco se reportan diferencias en los grupos TA, DEP, DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT en cuanto al tiempo de latencia de escaladas antes y después del tratamiento (Figura 13, Tabla 2; Anexo 2; $p=1$; $w=3.5$; $p=0.54$; $w=10$; $p=0.87$; $w=9$; $p=1$; $w=14$; $p=0.57$; $w=22.5$; a correspondencia).

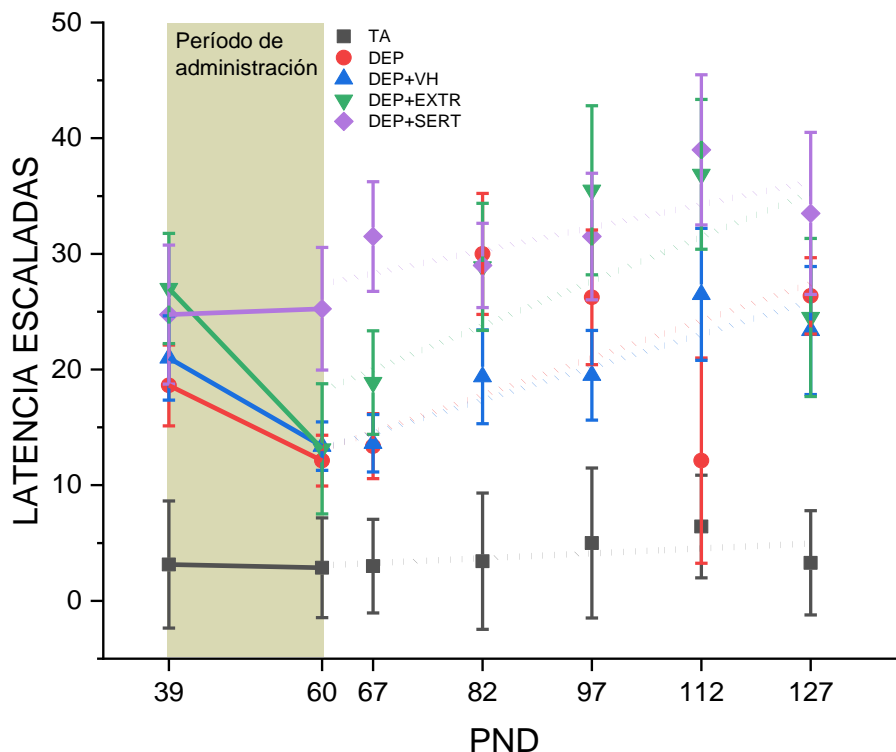


Figura 13. Latencia promedio de los episodios de escalada

Aunado a lo anterior, la evaluación de los datos indica que en el DPN 39 los grupos TA, DEP, DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT exhibieron una conducta semejante en cuanto al número de episodios de nado (Figura 14, Tabla 15, Anexo 4). No obstante, en el DPN 60, y una semana posterior (DPN 67), la frecuencia de episodios de nado fue mayor en TA con respecto a los grupos DEP ($p=0.03$), DEP+SERT ($p<0.01$) y DEP+VH ($p=0.03$). También se observó que los animales administrados con el extracto metanólico de *P. cubensis*, nadaron más los que se fueron tratados con sertralina ($p=0.04$).

En cuanto a la comparativa pre y post tratamiento, se reporta un aumento significativo en los periodos de nado en los animales sin depresión (Figura 14; Tabla 2, Anexo 2; $p=0.04$; $w=2$). Por otro lado, en los grupos DEP, DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT ($p=1$; $w=18$; $p=0.19$; $w=27.5$; $p=0.19$; $w=8$; $p=0.92$; $w=17$, respectivamente) hubo una tendencia a mantener el número de episodios de nado, tras el tratamiento a los grupos correspondientes ($p=1$; $w=18$; $p=0.19$; $w=27.5$; $p=0.19$; $w=8$; $p=0.92$; $w=17$, respectivamente).

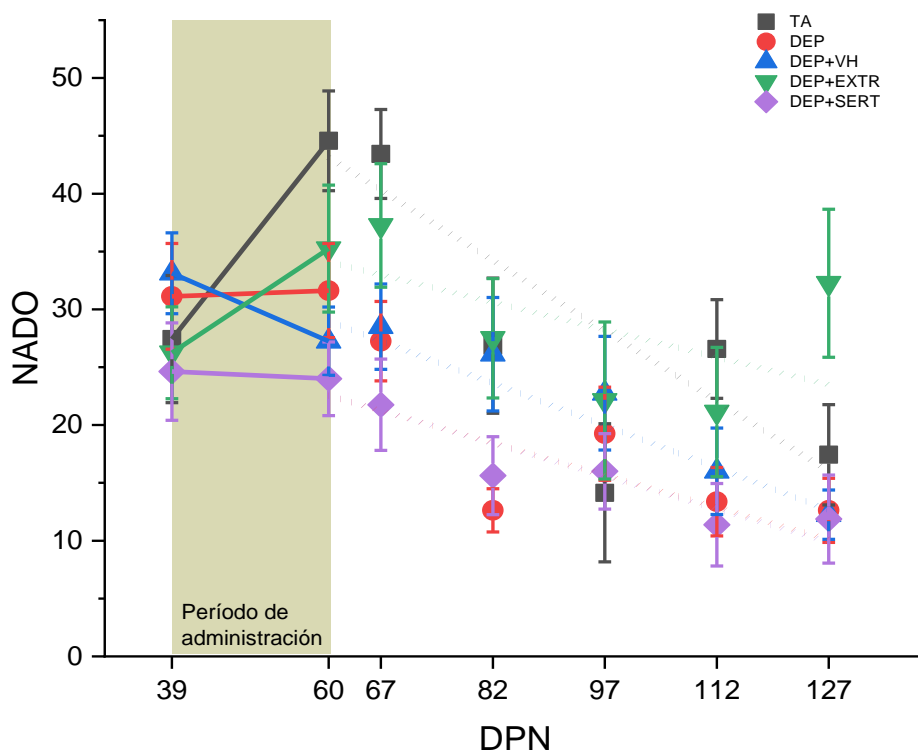


Figura 14. Frecuencia promedio de los episodios de natación

En los grupos TA y DEP+EXTR se reporta una mayor cantidad de episodios de nado en el DPN 82, en contraste con los animales administrados con sertralina ($p=0.04$; $p=0.05$). A su vez, el grupo DEP mostró una frecuencia menor de nado con respecto a los deprimidos tratados con solución salina (Figura 14; $p=0.04$).

Por lo que cabe a los DPN 97 y 112, las frecuencias de nado fueron semejantes en todos los grupos de estudio (Tabla 6, Anexo 3; Tabla 15, Anexo 4). Finalmente, en el DPN 127 se reporta que un mayor número de episodios de natación en el grupo de animales deprimidos administrados con *P. cubensis* en relación con los sujetos deprimidos sin medicación ($p=0.03$), los tratados con solución salina ($p=0.03$) y los que recibieron la administración de sertralina ($p=0.03$).

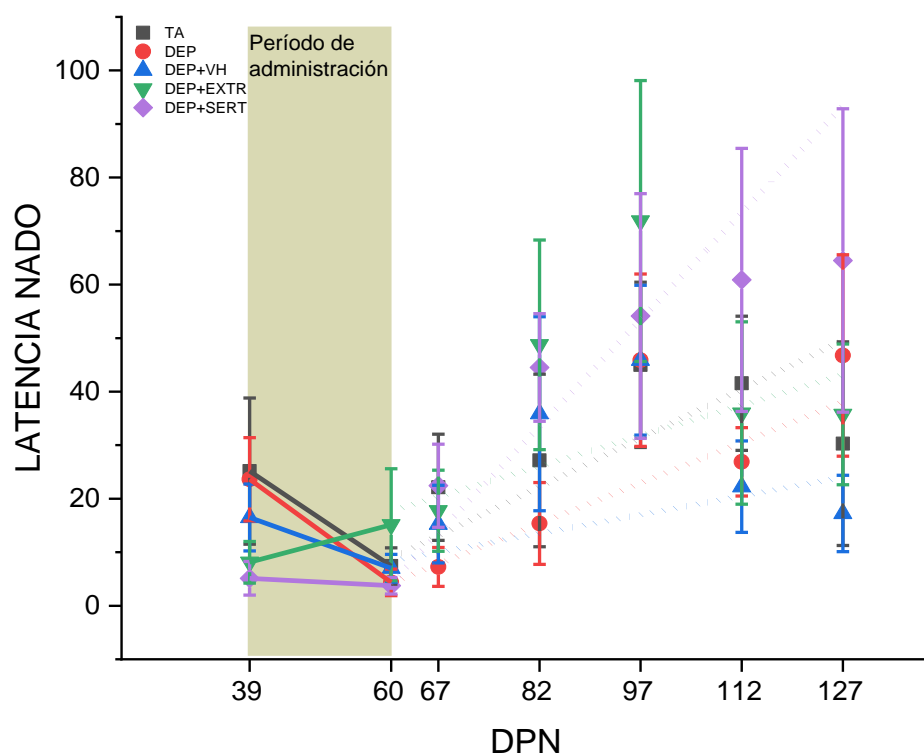


Figura 15. Latencia promedio de los episodios de natación

Debe señalarse que, el tiempo de latencia de los episodios de nado fue similar entre todos los grupos durante el DPN 39, 60, 67, 82, 97, 112 y 127 (Figura 15; Tabla 9, Anexo 3; Tabla 18, Anexo 4). Sin embargo, de manera general, se observó una tendencia en todos los grupos al incremento del tiempo de latencia a lo largo del tiempo, siendo DEP+SERT en donde se registraron los tiempos de latencia más altos, dicho de otra forma, los sujetos pertenecientes a este grupo iniciaron los

episodios de nado alrededor de los 40-60 s de haber iniciado la prueba de nado forzado.

No hubo diferencias en el tiempo de latencia de nado en los grupos TA, DEP, DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT, antes y después del periodo de administración (Figura 15; Tabla 2, Anexo 2; $p=0.12$; $w=14$; $p=0.07$; $w=25$; $p=0.21$; $w=17$; $p=0.4$; $w=15$; $p=1$; $w=7.5$, respectivamente).

Con respecto a la cantidad de heces cuantificadas durante las pruebas de nado forzado programadas (Figura 16), el análisis de datos sugiere que los animales sin depresión tuvieron una tendencia a depositar más heces en el cilindro en donde se realizó la prueba de nado forzado, mientras que los animales deprimidos presentaron una menor cantidad durante el DPN 39 (Tabla 10, Anexo 3). Sin embargo, se reportan resultados significativos en los grupos DEP+SERT ($p=0.01$) y DEP+VH ($p=0.01$) comparados con TA (Tabla 19, Anexo 4).

Después del tratamiento (DPN 60) y una semana después del haber concluido el periodo de administración (DPN 67), los animales del grupo DEP+SERT ($p=0.01$) exhibieron un número mayor de heces con respecto a TA. El análisis no sugiere diferencias en el resto de los grupos en los días antes mencionados, ni en los que conciernen al DPN 82 y 112 (Tabla 19, Anexo 4).

Se registró una disminución en el número de heces en el grupo TA en el DPN 39 comparado con el DPN 60 (Figura 16, Tabla 2; Anexo 2; $p=0.03$; $w=21$). Por otra parte, en el resto de los grupos (DEP, DEP+VH, DEP+EXTR y DEP+SERT) no se encontraron cambios significativos ($p=0.06$; $w=32$; $p=0.46$; $w=23.5$; $p=0.13$; $w=29.5$; $p=0.71$; $w=15$, respectivamente) es decir, hubo un mantenimiento en la cantidad de heces depositadas en el cilindro durante las pruebas programada de nado forzado antes y después del periodo de administración.

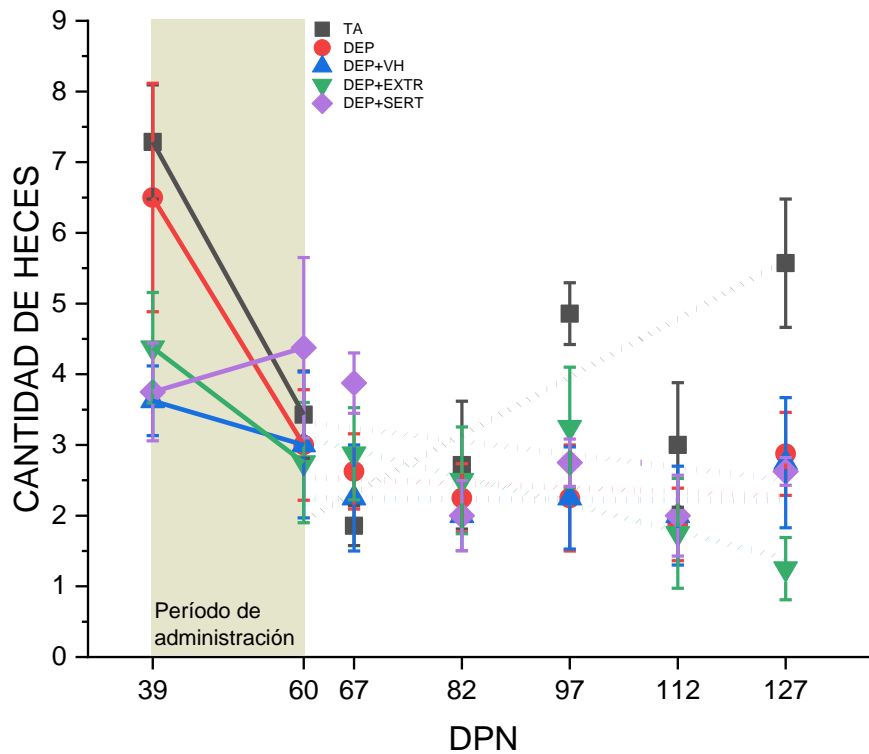


Figura 16. Promedio de heces durante las pruebas de nado forzado programadas

Ahora bien, el análisis del comportamiento registrado en el DPN 97 apunta diferencias entre los grupos DEP ($p=0.01$), DEP+SERT ($p=0.03$) y DEP+VH ($p=0.03$) con respecto a los animales sin depresión.

En adición, en la última prueba de nado forzado programada, se observó una separación, en cuanto a la cantidad de heces, en los grupos en los que se realizó el protocolo de nado forzado con respecto a los animales que no fueron separados de la madre; es decir la cantidad de heces fue superior en el grupo TA en contraste con DEP ($p=0.02$), DEP+VH ($p=0.04$), DEP+EXTR ($p<0.001$) y DEP+SERT ($p=0.03$; Figura 16).

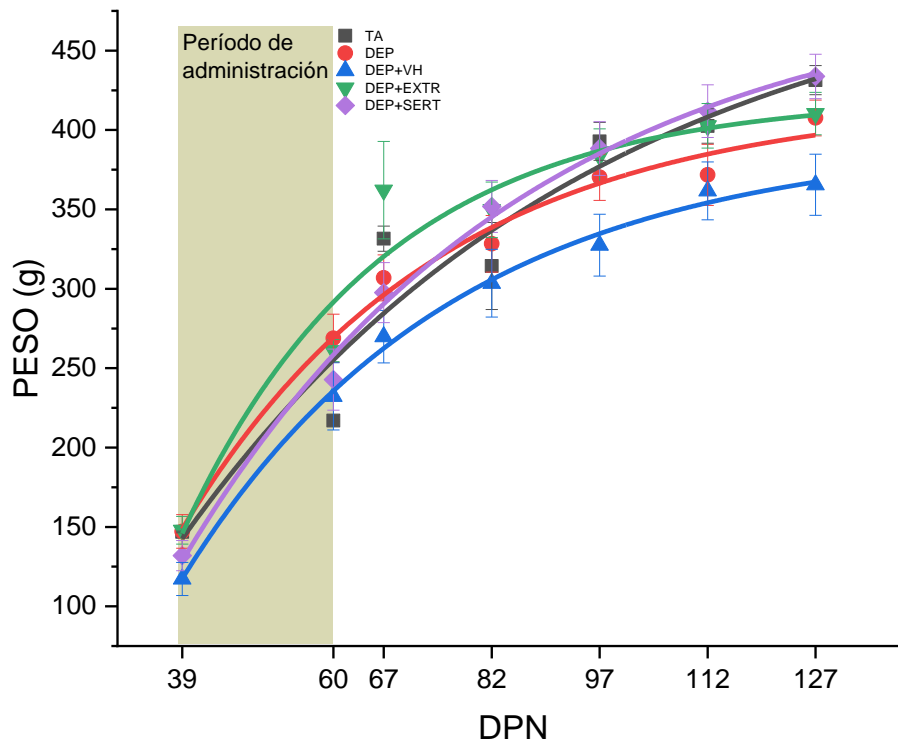


Figura 17. Ajuste asintótico de los pesos obtenidos a lo largo de los días

Con respecto al peso (Figura 17), se reportan diferencias en el ajuste asintótico del grupo DEP+VH con respecto a DEP ($p < 0.01$), DEP+EXTR ($p < 0.001$), DEP+SERT ($p < 0.001$) y TA ($p < 0.001$; Tabla 11, Anexo 3; Tabla 20, Anexo 4). En otras palabras, el peso de los animales deprimidos con administración de solución salina obtuvo en peso promedio menor en comparación con los animales sin depresión, los deprimidos sin administración, con tratamiento de sertralina y de *P. cubensis*.

Finalmente, el análisis del consumo de sacarosa en animales sin depresión y animales deprimidos a través de la separación materna (Figura 18) exhibe diferencias de TA, comparado con DEP ($p < 0.001$), DEP+VH ($p < 0.001$), DEP+SERT ($p < 0.001$) y DEP+EXTR ($p < 0.01$). Además, se registraron diferencias entre los grupos en los que se realizó el protocolo de separación materna (DEP+SERT vs.

DEP+EXTR, $p=0.05$; Tabla 12, Anexo 3; Tabla 21, Anexo 4). Posterior al tratamiento, nuevamente, el grupo TA fue distinto de DEP ($p=0.01$), DEP+VH ($p<0.001$), DEP+SERT ($p<0.01$) y DEP+EXTR ($p<0.01$).

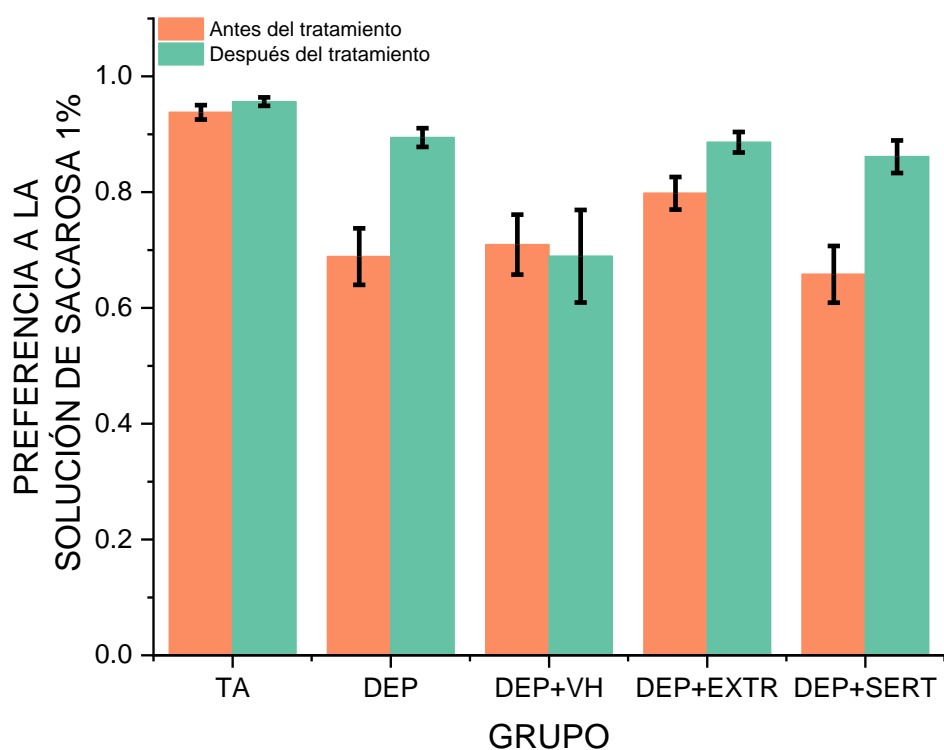


Figura 18. Resultados de la prueba de anhedonia

Finalmente, en lo que respecta a la comparativa pre y post tratamiento, en el grupo TA se registró un aumento en el consumo de solución de sacarosa ($p<0.001$; $w=0$), del mismo modo que DEP ($p<0.001$; $w=0$), DEP+EXTR ($p<0.01$; $w=10.5$) y DEP+SERT ($p<0.01$; $w=11$). El consumo en DEP+VH fue similar antes y después del tratamiento (Figura 18; Tabla 3, Anexo 2).

Discusión

El modelo de depresión por separación materna favorece la presencia de episodios de inmovilidad en animales no medicados durante la prueba de nado forzado (MacQueen, *et al.*, 2013; Dimatelis, Stein, & Russell, 2012; Cui, *et al.*, 2020). Porsolt, *et al.* (1977) sugiere que la inmovilidad, durante la PNF, refleja un estado de desesperación en ratas; además, el comportamiento pasivo es sensible a modificarse, en cuanto a los episodios de este comportamiento, de acuerdo al tratamiento terapéutico empleado para tratar síntomas de TDM (Porsolt, 1977). Nuestros resultados muestran que, en el DPN 39, durante la PNF confirmatoria de síntomas tipo depresivos, los animales sin separación materna no presentaron episodios de inmovilidad en ningún momento durante la PNF, en contraste con los animales en los que se realizó el protocolo de separación materna. Tampoco se reportan diferencias en el comportamiento activo ni en el tiempo de latencia correspondiente.

Debido a que la sintomatología central del modelo de depresión generado a través de la separación materna no involucra ansiedad (Planchez, Surget, & Belzung, 2019) suponemos que el tratamiento con ISRS, en este caso sertralina, disminuye los episodios de inmovilidad y aumenta la latencia, pero mantiene la frecuencia del comportamiento activo. Este efecto se observó hasta una semana posterior al tratamiento. Por otro lado, el tratamiento con el extracto metanólico de *P. cubensis* tuvo un efecto, observado en la frecuencia de los episodios de inmovilidad, desde el DPN 60 hasta el DPN 127, es decir la eficacia del tratamiento durante 15 días perdura hasta 67 días después de haber finalizado.

De acuerdo con McRae y Brady (2001) el objetivo de la sertralina es incrementar la disponibilidad de 5-HT en el sistema nervioso central. La eficacia en el tratamiento del TDM está vinculada con las vías serotoninérgicas del núcleo del rafe hacia la corteza prefrontal. Tras la administración, la sertralina bloquea los recaptadores de 5-HT de las dendritas y el axon, favoreciendo el incremento de

5-HT en la hendidura sináptica, que se traduce en la disminución de regulación del receptor 5-HT_{1a}. Este retardo podría explicar por qué no tiene un efecto antidepresivo inmediato y que, en consecuencia, el tratamiento debe ser prolongado y constante para que las células neuronales no retornen a su estado basal. La desmetilsertralina, un metabolito de la sertralina obtenido a partir de vías oxidativas y de glucoridación, posee entre 5-10% de potencia inhibitoria de la recaptación de 5-HT y es equipotente a la sertralina para inhibir a CYP2D6 (una enzima que metaboliza alrededor del 20% de los fármacos antipsicóticos y antidepresivos; Flores-Pérez, *et al.*, 2007) además tiene una vida media de 60-100 horas (tres veces más que la sertralina), debido a lo cual se sugiere que se favorece una prolongación del efecto antidepresivo. Esto se correlaciona con nuestros datos debido a que en el DPN 60 y 67 se observó una frecuencia similar en la conducta pasiva que en el DPN 39; en otras palabras, el tratamiento con sertralina mantiene el número promedio de inmovilidades hasta una semana posterior a concluir el tratamiento. En adelante, el promedio de inmovilidades fue similar con los registrados en los animales deprimidos, y los administrados con solución salina.

Carhart-Harris y Nutt (2017) propusieron “un modelo bipartito que explica cómo los ISRS y psuedélicos pueden modular el sistema serotoninérgico de diferentes maneras. El afrontamiento pasivo (es decir, tolerar una fuente de estrés) está mediado por la señalización 5-HT_{1A}R postsináptica y se caracteriza por la moderación del estrés. El afrontamiento activo (es decir, abordar activamente una fuente de estrés) está mediado por la señalización de 5-HT_{2A}R y se caracteriza por una mayor plasticidad (definida como capacidad de cambio). La moderación del estrés mediada por 5-HT_{1A}R quizá sea la respuesta predeterminada del cerebro a la adversidad, pero una capacidad mejorada para cambiar la situación y/o la relación a través de la plasticidad mediada por 5-HT_{2A}R también puede ser importante, y cada vez más a medida que el nivel de adversidad alcanza un punto crítico. La activación del 5-HT_{1A}R se ve reforzada por los antidepresivos bloqueadores de la recaptación de 5-HT convencionales, como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) como la sertralina, mientras que la ruta 5-HT_{2A}R

se ve reforzada por los psiquedélicos agonistas 5-HT_{2A}R. La propuesta de que los psiquedélicos inducen un estado plástico es consistente con la hipótesis del cerebro entrópico”.

Dado que, hemos encontrado un efecto inhibitor de los episodios de inmovilidad, que se traduce como una menor desesperación conductual, tras la administración del extracto metanólico de un hongo alucinógeno en un modelo animal, nos aventuramos a proponer una correlación de nuestro resultado con la hipótesis antes mencionada

En cuanto al número de heces, en el presente, se reporta que algunos animales separados de la madre (DEP+SERT y DEP+VH) defecaron menos que las que no fueron separadas de la madre durante la PNF confirmatoria, comportamiento observado también en los DPN 60, 67, 82, 97, 112 y 127 . Al respecto, Nishimura y colaboradores, (1987) sugieren que la defecación podría estar relacionada con el comportamiento emocional de la rata, es decir, sugiere que los animales que los animales que permanecen inmóviles por más tiempo durante la prueba parecen ser más emocionales a la situación, en contraste con los animales que no presentan comportamiento pasivo. Puesto que la sintomatología reportada del modelo de depresión a través de eventos adversos durante la vida temprana, como la separación materna, involucra desesperación pero no anhedonia, alteraciones en el sueño y anormalidades psicomotoras (Planchez, Surget, & Belzung, 2019).

Finalmente en cuanto a la anhedonia, la fiabilidad de nuestros datos se ve comprometida por la inexactitud del goteo de los bebederos proporcionados por el bioterio así como las fugas del contenido; debido a que existen diversas metodologías para hacer la prueba, no discriminamos adecuadamente cuál emplear; en adición, el efecto del estrés de la prueba forzado perdura hasta los 5 días posteriores, y la prueba previa al tratamiento comenzó tres días después de realizar la PNF confirmatoria, en el DPN 39 (Cita Eve). No obstante, previo al tratamiento se observó que los animales no separados de la madre consumieron

más sacarosa comprados con los animales en los que se realizó el protocolo de separación materna, semejante a lo reportado por Cui, *et al.* (2020); sin embargo, posterior al periodo de administración, el consumo de los animales deprimidos sin tratamiento tuvo un aumento en el consumo promedio de sacarosa. Se tienen reportes de que el modelo de depresión inducido por estrés a través de eventos adversos en la vida temprana (por ejemplo, la separación materna) provoca desesperación en las crías, pero no anhedonia, alteraciones en el sueño y anormalidades psicomotoras (Shalev & Kafkafi, 2002; Planchez, Surget, & Belzung, 2019).

Conclusiones

La administración aguda del extracto metanólico de *P. cubensis* tiene acción rápida y de con mayor prevalencia que un tratamiento de la misma duración con sertralina, en la disminución de los episodios de inmovilidad en un modelo de depresión causado por estrés temprano. Sin embargo, son necesarios más estudios que profundicen en los mecanismos asociados.

Bibliografía

- Alvano, S. A., & Zieher, L. M. (2019). An updated classification of antidepressants: A proposal to simplify treatment. *Personalized Medicine in Psychiatry*, 1-14.
- Atli, O., Baysal, M., Aydogan-Kilic, G., Kilic, V., Ucarcan, S., Karaduman, B., & Ilgin, S. (2017). Sertraline-induced reproductive toxicity in male rats: evaluation of possible underlying mechanisms. *Asian Journal of Andrology*(19), 672-679.
- Baldwin, D., & Birtwistle, J. (2002). *An Atlas of Depression*.
- Bolton, J. L., Molet, J., Autumn, I., & Baram, T. Z. (2017). New insights into early-life and behavioral outcomes. *Current opinion in behavioral sciences*(14), 133-139.
- Carhart-Harris, R. L., Bolstridge, M., Day, C. M. J., Rucker, J., Watts, R., Erritzoe, D. E., ... Nutt, D. J. (2017). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: six-month follow-up. *Psychopharmacology*, 1–10.
- Carhart-Harris, R. L., & Goodwin, G. M. (2017). The Therapeutic Potential of Psychedelic Drugs: Past, Present, and Future. *Neuropsychopharmacology*, (42), 2105–2113.
- Carhart-Harris, R., & Nutt, D. (2017). Serotonin and brain function: a tale of two receptors. *Journal of Psychopharmacology*, 31(9), 1091-1120.
- Carod-Artal, F. J. (2015). Alucinógenos en las culturas precolombinas mesoamericanas. *Neurología*, 30(1), 42–49.
- Carretero, M. (2002). Sertralina. *OFFARM*, 21(5), 162-165.
- Cui, Y., Cao, K., Lin, H., Cui, S., Shen, C., Wen, W., . . . Zhang, R. (2020). Early-Life Stress Induces Depression-Like Behavior and Synaptic-Plasticity

- Changes in a Maternal Separation Rat Model: Gender Difference and metabolomics study. *Front. Pharmacol.*, 11(102), 1-13.
- Deussing, J. M. (2006). Animal models of depression. *Drug Discovery Today: Disease Models. Disorders of the Central Nervous System*, 3(4), 375–383.
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, (2013) Arlington: 5a. ed.
- Diaz Villa, B. A., & González González, C. (2012). Actualidades en neurobiología de la depresión. *Rev Lationam Psiquitría*, 11(3), 106–115.
- Dimatelis, J., Stein, D., & Russell, V. (2012). Behavioral changes after maternal separation are reversed by chronic constant light treatment. *Brain Research* 1480, 61-71.
- Duman, R. S. (2018). Ketamine and rapid-acting antidepressants: a new era in the battle against depression and suicide [version 1; referees: 3 approved]. *F1000Research*, 1-10.
- Escobar, A; Guadarrama, L. y Zhang, L. (2006). Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. *Rev Fac Med UNAM*, 49(2), 66–72.
- Evans Schultes, R., Hofmann, A., & Rálsch, C. (2000). *Plantas de los Dioses: Las fuerzas mágicas de las plantas alucinógenas*.
- Flores-Pérez, J., Cruz-Reyes, I., & Flores-Pérez, C. (2007). El apoyo del citocromo P450 (CYP2D6) en el uso de medicamentos antipsicóticos. *Acta Padriat Mex.*, 28(6), 278-284.
- Global Catalogue of Microorganisms: *Psilocybe cubensis*. Recuperado de http://gcm.wfcc.info/speciesPage.jsp?strain_name=Psilocybe%20cubensis
- Gómez Restrepo, C., Jordán Quinteros, M. I., Hernández Bayona, G., Rojas Urrego, A., Santacruz Oleas, H., & Uribe Restrepo, M. (2018). *Psiquiatría clínica*. Bogotá: Editorial Medica Panamericana.

- Griffiths, R. R., Johnson, M. W., Carducci, M. A., Umbricht, A., Richards, W. A., Richards, B. D., Klinedinst, M. A. (2016). Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial.
- Grob, C. S., Danforth, A. L., Gurpreet, C. S., McKay, C. R., Halberstadt, A. L., & Greer, G. R. (2011). Pilot Study of Psilocybin Treatment for Anxiety in Patients with Advanced-Stage Cancer. *ARCH GEN PSYCHIATRY*, 68(1), 71–78.
- Guzmán, G. (2016). Las relaciones de los hongos sagrados con el hombre a través del tiempo. *Anales de Antropología*, 50(1), 134–147.
- Halberstadt, A. L., & Geyer, M. A. (2013). Characterization of the head-twitch response induced by hallucinogens in mice: Detection of the behavior based on the dynamics of head movement. *Psychopharmacology*, 227(4), 727–739.
- Jackson, R. E., & Alexopoulos, C. J. (1976). *Psilocybe cubensis* (Agaricales): A Comparison of Mexican and Texas Types. *Southwestern Association of Naturalists*, 21(2), 227–233.
- Johnson, M. W., Garcia-Romeu, A., Cosimano, M. P., & Griffiths, R. R. (2015). Pilot Study of the 5-HT_{2A}R Agonist Psilocybin in the Treatment of Tobacco Addiction. *J Psychopharmacol*, 28(11), 983–992.
- Kandel, E. *et al.* (2012). *Principes of neural science*. Estados Unidos: McGraw Hill Education, 5a. ed.
- Katz, P. (1999). *Beyond Neuritransmission*. Estados Unidos: Oxford University Press.
- Köhler, S., Cierpinsky, K., Kronenberg, G., & Adli, M. (2016). The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants. *Journal of Psychopharmacology*, 30(1), 13–22.
- MacQueen, G. M., Ramakrishnan, K., Ratnasingan, R., Chen, B., & Young, L. T.

- (2003). Desipramine treatment reduces the long-term behavioural and neurochemical sequelae of early-life maternal separation. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, (6), 391–396.
- McRae, A., & Brady, K. T. (2001). Review of sertraline and its clinical applications in psychiatric disorders. *Exp- Opin. Pharmacother.*, 2(5), 883-892.
- Meyer, H., Ginovart, N., Boovariwala, A., Segrati, S., Hussey, D., García, A., ... Houle, S. (2006). Elevated Monoamine Oxidase A Levels in the Brain. An Explanation for the Monoamine Imbalance of Major Depression. *ARCH GEN PSYCHIATRY*, 63, 1209–1216.
- Misra, J. K., & Deshmukh, S. K. (Eds.). (2009). *Fungi from Different Environments* (Primera ed). India: Science Publishers.
- Moreno, J., Campos, M. G., Lara, C., & Torner, C. (2005). El sistema serotoninérgico en el paciente deprimido. Primera parte. *Salud Mental*, 28(6), 20–26.
- Nester, E. J. (2011). Animal Models of Depression: Molecular Perspectives. *Curr Top Behav Neurosci*, (7), 121–147.
- Nester, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal Models of Neuropsychiatric Disorders. *Nat Neurosci.*, 13(10), 1161–1169.
- Nishimura, H., Tsuda, A., Oguchi, M., Ida, Y., & Tanaka, M. (1987). Is immobility of rats in the Forced Swim Test "Behavioral Despair"? *Physiology & Behavior*, 42, 93-95.
- Papp, M. (1996). Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *European Journal of Pharmacology*, (296), 129–136.
- Planchez, B., Surget, A., & Belzung, C. (2019). Animal models of major depression: drawbacks and challenges. *Journal of Neural Transmission*(126), 1383–1408.

- Peña-Casanova, J. (2017). *Neurología de la Conducta y Neuropsicología*. Buenos Aires, Madrid: Ed. Panamericana.
- Pereira-Figueiredo, I., Castellano, O., Riobos, A. S., Ferreira-Dias, G., López, D. E., & Sancho, C. (2017). Long-Term Sertraline Intake Reverses the Behavioral Changes Induced by Prenatal Stress in Rats in a Sex-Dependent Way. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11(99), 1–11.
- Pereira-Figueiredo, I. (2016). *Efectos de la administración de un inhibidor de la recaptación de serotonina, Sertralina, sobre los cambios inducidos por el estrés prenatal*. Universidad de Salamanca.
- Porsolt, R. D., Lenègre, A., & McArthur, R. A. (1991). Pharmacological Models of Depression. In B. Olivier, J. Mos, & J. L. Slagen (Eds.), *Animals Models in Psychopharmacology. Advances in Pharmacological Sciences* (1st ed., pp. 137–159). Francia: Birkhäuser Verlag Basel.
- Rodríguez-Carranza, R. (2013). *Vadecum académico de medicamentos* (Sexta edición ed.). México D. F.: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C. V.
- Ross, S., Bossis, A., Guss, J., Agin-liebes, G., Malone, T., Cohen, B., ... Schmidt, B. L. (2016). Rapid and sustained symptom reduction following psilocybin treatment for anxiety and depression in patients with life-threatening cancer: a randomized controlled trial. *Journal of Psychopharmacology*, 30(12), 1165–1180.
- Sánchez-Cruz, J. F., Hipólito-Loénzo, A., Mugártegui-Sánchez, S. G., & Yáñez-González, R. M. (2016). Estrés y depresión asociados a la no adherencia al tratamiento en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2. *Aten. Fam*, 23(2), 43-47.

- Shalev, U., & Kafkafi, N. (2002). Repeated maternal separation does not alter sucrose-reinforced and open-field behaviors. *Behavioral Neuroscience Branch*(73), 115– 122.
- Seligman, M. E. P., & Rosellini, R. A. (1975). Learned Helplessness in the rat: time course, immunization, and reversibility. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 88(2), 542–547.
- Serés-García, L. (2016). SÍNDROME ALUCINÓGENO, INDOLES ALUCINÓGENOS. *Revista Catalana de Micología*, 37, 75-85.
- Short, A. K., Bolton, J. L., & Baram, T. Z. (2019). Mechanisms by which early-life experiences promote enduring stress resilience or vulnerability. En A. Chen (Ed.), *Stress Resilience: molecular and behavioral aspects* (pág. 390). Academic Press.
- Singer, R., & Smith, A. H. (1958). Mycological investigations on teonanácatl, the mexican hallucinogenic mushroom. Part II. A taxonomic monograph of *Psilocybe*, section *Caerulescentes*. *Mycologia*, 50(2), 262-303.
- Slattery, D. A., & Cryan, J. F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature Protocols*, 7(6), 1009–1014.
- Stamets, P. (1996). *Psilocybin Mushrooms of the World: An Identification Guide* (Ten Speed). Singapur.
- Stifter, C. A., Fish, M., & Coulehan, C. M. (1993). Linking employment to attachment: the mediating effects of maternal separation anxiety and interactive behavior. *Child Development*, 1451-1460.
- Subiabre, A. D. (2012). Modelos animales para el estudio del estrés y las conductas depresivas. *Rev. Farmacol. Chile*, 1(5), 19–26.
- Tsujikawa, K., Kanamori, T., Iwata, Y., Ohmae, Y., Sugita, R., Inoue, H., & Kishi, T. (2003). Morphological and chemical analysis of magic mushrooms in Japan.

Forensic Science International, 138, 85–90.

Geyer, M.A., Vollenweider, F.X., (2008). Serotonin research: contributions to understanding psychoses. *Trends Pharmacol. Sci.* 29, 445-453.

Willner, P. (2005). Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. *Neuropsychobiology*, (52), 90–110.

Witkin, J. M., Martin, A. E., Golani, L. K., Xu, N. Z., & Smith, J. L. (2019). Rapid-acting antidepressants. *Advances in Pharmacology*, 86, 48-81.

Xiang, L., Szebeni, K., Szebeni, A., Klimek, V., Stockmeier, C. A., Karolewicz, B., Ordway, G. A. (2009). Dopamine Receptor Gene Expression in Human Amygdaloid Nuclei: Elevated D4 Receptor mRNAs in Major Depression. *Brain Res.*, 1207, 214–224.

Zajdel, J., Zager, A., Blomqvist, A., Engblom, A., & Shionoya, K. (2019). Acute maternal separation potentiates the gene expression and corticosterone response induced by inflammation. *Brain, behavior and immunity*, 77, 141-149.

Zhuk, O., Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Kazakova, A., Godovan, V. V., Halama, M., & Wieczorek, P. P. (2015). Research on acute toxicity and the behavioral effects of methanolic extract from psilocybin mushrooms and psilocin in mice. *Toxins*, 7(4), 1018–1029.

Anexos

Anexo 1. Resultados del análisis del extracto metanólico de *P. cubensis*

Lab. Fitoquímica, Fac de Ciencias
UNAM
Tel. 56 224905

Analysis Report

Method C:\Users\yy\Pictures\Enrique\Paty Psilocybe.cme
Created by Enrique Llanos lunes, 03 de octubre de 2016 02:10:16 p.m.
Last modified by Enrique Llanos lunes, 03 de octubre de 2016 02:33:31 p.m.
SOP document
Validated Design
Description : Extractos MeOH de Psilocybe sp. 5mg/mL
Analysis C:\Users\yy\Pictures\Enrique\Paty - Psilocybe\Paty Psilocybe
20161003-
001.cna
Created/used by Enrique Llanos miércoles, 05 de octubre de 2016
01:06:10 p. m.
Current user Enrique Llanos

Stationary phase

Executed by Enrique Llanos lunes, 03 de octubre de 2016 06:18:59 p.m.
Plate size (X x Y) 10.0 x 10.0 cm
Material TLC plates silica gel 60 F 254 Nano Adamant
Manufacturer Macherey & Nagel
Batch
GLP code
Pre-washing Yes
Mode
Solvent name Methanol/Acetone
Manufacturer Tecsiquim
Batch
Drying device Plate heater
Temperature 120 °C
Time 20 Minutes
Modification No

Definitions - Screening

Executed by Enrique Llanos miércoles, 05 de octubre de 2016 12:26:49 p.m.

Samples

A Cristales ~2mm opacos, solubilizado en Agua:MeOH (80:20)
 B Pasta café, solubilizada en Agua:MeOH (80:20)
 C Cristales ~1mm en líquido café, solubilizados en MeOH

<u>Substance name</u>	<u>Rf</u>	<u>Window size</u>
Psilocin	0.62	1.044
Psilocybin	0.18	2.814
Indole acetic ac	0.78	1.330

Instrument CAMAG Automatic TLC Sampler 4 (ATS4) "ATS4_080723" S/N 080723 (1.02.15)
 Executed by Enrique Llanos lunes, 03 de octubre de 2016 07:14:47 p.m.

ATS4 application parameters

Spray gas : N2
 Sample solvent type: Water
 Filling speed : 8 µl/s
 Predosage volume : 200 nl
 Retraction volume : 200 nl
 Dosage speed : 50 nl/s
 Filling quality: User defined
 Rinsing cycles / vacuum time : 1 / 8.0 s
 Filling cycles / vacuum time : 2 / 8.0 s
 Rinsing solvent name: Methanol
 Spray gas temperature: Unheated
 Rack in use: Standard

Sequence

Syringe size: 25 µl
 Number of tracks: 13
 Application type: Band
 Band width: 0.0 mm
 Band length: 3.0 mm
 Start X: 13.0 mm
 Start Y: 9.0 mm
 Distance between tracks: 6.1 mm

Application Nr.	position	Application volume	Rack column	Rack row	Sample ID	Active
--------------------	----------	-----------------------	----------------	-------------	-----------	--------

>1	13.0 mm	5.0 µl	B	1		Yes
>2	19.1 mm	5.0 µl	A	1	A	Yes
>3	25.2 mm	5.0 µl	A	2	B	Yes
>4	31.3 mm	5.0 µl	A	3	C	Yes
>5	37.4 mm	10.0 µl	B	1		Yes
>6	43.5 mm	10.0 µl	A	1	A	Yes
>7	49.6 mm	10.0 µl	A	2	B	Yes
>8	55.7 mm	10.0 µl	A	3	C	Yes
>9	61.8 mm	15.0 µl	B	1		Yes
>10	67.9 mm	15.0 µl	A	1	A	Yes
>11	74.0 mm	15.0 µl	A	2	B	Yes
>12	80.1 mm	15.0 µl	A	3	C	Yes
>13	86.2 mm	20.0 µl	B	1		Yes

Development - Glass tank

Chamber type

Flat Bottom Chamber 20x10cm

Executed by
12:33:04 p.m.

Enrique Llanos miércoles, 05 de octubre de 2016

Comment

Saturated tank

Pre-conditioning

Mobile phase

EtOH:Acetic acid:Water (6:3:1)

Solvent front position

79.0 mm

Volume

20.0 ml

Drying device

air

Temperature

25 °C

Time

5 Minutes

Notes

A. Baerheim-Svendsen and R. Verpoorte (1983)

Chromatography of Alkaloids, Part A: Thin-Layer

Chromatography (Journal of Chromatography Library, Volume 23 A). XVI + 536 S., 13
Abb., 293 Tab.

Amsterdam-Oxford-New York. Elsevier Scientific Publishing
Company. Dfl. 245.00. ISBN: 0-44-42145-9

Sample application - CAMAG Automatic TLC Sampler 4 (ATS4)

Post-Chromatographic Derivatization

Instrument Sprayer
 Executed by Enrique Llanos miércoles, 05 de octubre de 2016 12:36:20 p.m.
 Comment
 Solution Van Urk - Salkowsy
 Volume 10.0 mL
 Drying device Plate heater
 Temperature 100 °C
 Time 5 Minutes
 Notes Psilocin: blue. Psilocybin: blue purple. Indole acetic acid: blue-violet. Ehmann A. (1977) The van urk-Salkowski reagent--a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives. J Chromatogr. Feb 11;132(2):267-76. PMID: 188858

Evaluation results

Evaluation Sequence

Track	Track type	Vial	Sam ple ID
1	Sample	B1	
2	Sample	A1	A
3	Sample	A2	B
4	Sample	A3	C
5	Sample	B1	
6	Sample	A1	A
7	Sample	A2	B
8	Sample	A3	C
9	Sample	B1	
10	Sample	A1	A
11	Sample	A2	B
12	Sample	A3	C
13	Sample	B1	

Table of substances

Substance	Position MD mm	Tracks											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2
Psilocin	52.3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Psilocybin	21.5		A	A	A	A	A	AA	A				
Indole acetic ac	63.7	A	A				A						A

Documentation

Executed by Enrique Llanos martes, 04 de octubre de 2016
 01:36:51 p.m.

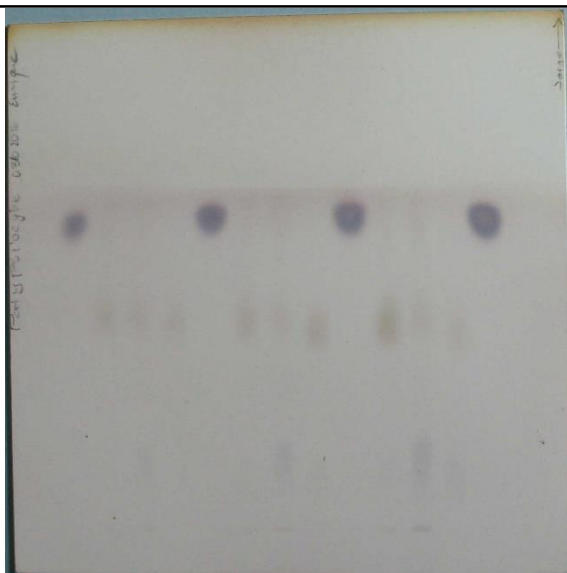
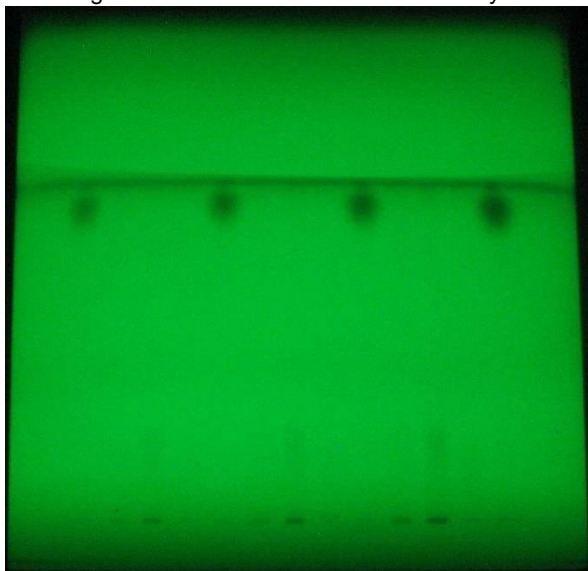
Image Document

Executed by Enrique Llanos martes, 04 de octubre de 2016 01:36:14 p.m.
Image name Paty Psi 254

Created by Enrique Llanos on martes, 04 de octubre de 2016 01:36:14 p.m.
Image ID 57F3F69E

Image Document

Executed by Enrique Llanos martes, 04 de octubre de 2016 01:36:50 p.m.
Image name Paty Psi VUS vis



Created by

Enrique Llanos on martes, 04 de octubre de 2016 01:36:51

Image ID

p.m.
57F3F6C3

Anexo 2. Tabla de valores y significancia de la conducta, latencia y heces antes y después de la administración (DPN39 y DPN 60)

Resultados de la prueba de Wilcoxon para la comparativa pre vs post tratamiento DPN 39 Y DPN 60				
Episodios de inmovilidad				
TA	DEP*	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med ₃₉ =0 Med ₆₀ =0 p=1; w=0	Med ₃₉ =6.5 Med ₆₀ =17 p=0.25; w=9.5	Med₃₉=5 Med₆₀=20 p<0.01** ; w=0	Med ₃₉ =4.5 Med ₆₀ =0.5 p=0.38; w=25	Med ₃₉ =10 Med ₆₀ =10 p=0.78; w=16
Episodios de escaladas				
TA	DEP	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med₃₉=30 Med₆₀=15 p=0.04* ; w=26	Med ₃₉ =18 Med ₆₀ =11.5 p=0.08; w=30.5	Med₃₉=21.5 Med₆₀=13 p=0.05* ; w=32	Med ₃₉ =28 Med ₆₀ =18.5 p=0.31; w=26	Med ₃₉ =19 Med ₆₀ =25.5 p=0.64; w=14
Episodios de nado				
TA	DEP	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med₃₉=30 Med₆₀=45 p=0.04* ; w=2	Med ₃₉ =30.5 Med ₆₀ =31.5 p=1; w=18	Med ₃₉ =26.25 Med ₆₀ =21.5 p=0.19; w=27.5	Med ₃₉ =23.5 Med ₆₀ =31.5 p=0.19; w=8	Med ₃₉ =26 Med ₆₀ =24 p=0.92; w=17
Latencia inmovilidad				
TA	DEP	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med ₃₉ =300 Med ₆₀ =300 p=1; w=0	Med₃₉=17.5 Med₆₀=75 p=0.03* ; w=3	Med ₃₉ =19.5 Med ₆₀ =19.5 p=0.46; w=9	Med ₃₉ =17 Med ₆₀ =209 p=0.14; w=7	Med ₃₉ =49 Med ₆₀ =89 p=0.14; w=7
Latencia escaladas				
TA	DEP	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med ₃₉ =1 Med ₆₀ =1 p=1; w=3.5	Med ₃₉ =5 Med ₆₀ =10 p=0.54; w=10	Med ₃₉ =5.5 Med ₆₀ =7.5 p=0.87; w=9	Med ₃₉ =9 Med ₆₀ =10 p=1; w=14	Med ₃₉ =7 Med ₆₀ =5 p=0.57; w=22.5
Latencia nado				
TA	DEP	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med ₃₉ =20 Med ₆₀ =5 p=0.12; w=14	Med ₃₉ =24.5 Med ₆₀ =1 p=0.07; w=25	Med ₃₉ =11.5 Med ₆₀ =5 p=0.21; w=17	Med ₃₉ =4.5 Med ₆₀ =1 p=0.4; w=15	Med ₃₉ =1 Med ₆₀ =1 p=1; w=7.5
Heces				
TA	DEP	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med₃₉=8 Med₆₀=4 p=0.03* ; w=21	Med ₃₉ =5.5 Med ₆₀ =2.5 p=0.06; w=32	Med ₃₉ =3.5 Med ₆₀ =2.5 p=0.46; w=23.5	Med ₃₉ =4.5 Med ₆₀ =3 p=0.13; w=29.5	Med ₃₉ =4 Med ₆₀ =3.5 p=0.71; w=15

Tabla 2. Resultados de la prueba de Wilcoxon para la comparativa pre vs post tratamiento

Resultados de la prueba de Wilcoxon para la comparativa pre vs. post tratamiento Preferencia a la sacarosa				
TA	DEP*	DEP+VH	DEP+EXTR	DEP+SERT
Med _{pre} =0.94	Med _{pre} =0.72	Med _{pre} =0.71	Med _{pre} =0.82	Med _{pre} =0.66
Med _{post} =0.95	Med _{post} =0.94	Med _{post} =0.84	Med _{post} =0.9	Med _{post} =0.91
p<0.001***; w=0	p<0.001***; w=0	p=0.58; w=79	p<0.01**; w=10.5	p<0.01**; w=11

Tabla 3. Resultados de la prueba de Wilcoxon para la comparativa pre vs. post tratamiento en cuanto a la preferencia a la sacarosa

Anexo 3. Valores promedio de las conductas, latencia, heces, peso y preferencia de sacarosa

Frecuencia promedio de inmovilidades							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	0±0	0±0	1.57± 0.99	1± 0.57	1.85± 1.49	0.57± 0.46	0.85± 0.28
DEP	10.25± 2.73	16.25± 3.65	19.37± 3.57	17.37± 4.35	14.5± 3.50	18.12± 2.18	21± 3.51
DEP+VH	5.87± 0.93	19.37± 2.61	17.87± 2.36	14.5± 2.62	17.75± 3.79	17.5± 0.94	24.37± 5.74
DEP+EXTR	6.75± 2.62	4± 2.86	3.87± 1.75	3.62± 1.15	2.37± 0.83	2± 0.94	3.25± 1.10
DEP+SERT	10.65± 2.95	10.75± 3.81	6.75± 2.43	15.37± 2.58	12.5± 3.22	9.62± 3.22	14.62± 3.96

Tabla 4. Frecuencia promedio de inmovilidades

Frecuencia promedio de escaladas							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	32.57± 5.49	15.42± 4.31	15± 4.04	32.14± 5.89	44± 6.48	32.85± 4.43	41.71± 4.50
DEP	18.65± 3.49	12.12± 2.18	13.37± 2.80	30± 5.22	26.25± 5.82	28.5± 4.01	26.37± 3.30
DEP+VH	21± 3.64	13.37± 2.08	13.62± 2.48	19.37± 4.05	19.5± 3.87	26.5± 5.70	23.37± 5.53
DEP+EXTR	27± 4.76	20.75± 5.38	18.87± 5.49	28.87± 5.49	35.5± 7.31	36.87± 0.94	24.5± 6.83
DEP+SERT	24.75± 6	25.25± 5.30	31.5± 4.73	29± 3.64	31.5± 5.46	39± 6.49	33.5± 7

Tabla 5. Frecuencia promedio de escaladas

Frecuencia promedio de nado							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	27.42± 5.49	44.57± 4.31	43.42± 3.84	26.85± 5.84	14.14± 5.96	26.57± 4.26	17.42± 4.33
DEP	31.12± 4.56	31.65± 4.06	27.25± 3.43	12.62± 1.87	19.25± 4.02	13.37± 2.95	12.62± 2.77
DEP+VH	33.12± 3.49	27.25± 2.95	28.5± 3.68	26.12± 4.90	22.75± 4.91	16± 3.73	12.25± 2.13
DEP+EXTR	26.25± 3.96	32.25± 5.48	37.25± 5.34	27.5± 5.16	22.12± 6.78	21.12± 5.59	32.25± 6.39
DEP+SERT	24.62± 4.20	24± 3.18	21.75± 3.94	15.62± 3.37	16± 3.26	11.37± 3.56	11.87± 3.80

Tabla 6. Frecuencia promedio de nado

Latencia promedio de los episodios de inmovilidad (s)							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	300± 0	300± 0	216.85± 56.05	196.57± 54.70	171.85± 65.24	240.85± 46.58	161± 51.16
DEP	23.25± 9.82	82.37± 24.76	66.62± 33.72	14.12± 8.21	47.62± 26.54	7.62± 4.87	39.12± 14.36
DEP+VH	17.62± 5.67	33.37± 13.50	51± 17.81	72.75± 21.67	48.12± 23.58	74± 39.19	25.5± 10.88
DEP+EXTR	51± 31.25	173± 52.68	159.12± 51.44	143± 45.34	36.12± 29.58	225± 45.06	122.62± 39.88
DEP+SERT	42.37± 10.88	123± 46.56	117.87± 28.56	55.5± 18.82	33.25± 21.27	77.25± 41.46	52.37± 38.54

Tabla 7. Latencia promedio de los episodios de inmovilidad (s)

Latencia promedio de los episodios de escalada (s)							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	3.14± 1.11	2.85± 1.42	3± 1.39	3.42± 1.41	5± 1.33	6.42± 5.17	3.28± 0.87
DEP	18.62± 3.39	12.12± 2.18	13.37± 2.80	30± 5.22	26.25± 5.82	12.12± 8.87	26.37± 3.30
DEP+VH	21± 3.64	13.37± 2.08	13.62± 2.48	19.37± 4.05	19.5± 3.87	26.5± 5.70	23.37± 5.53
DEP+EXTR	27± 4.76	13.14± 5.63	18.87± 4.47	28.87± 5.49	35.5± 7.31	36.87± 6.47	24.5± 6.83
DEP+SERT	24.7± 6	25.25± 5.30	31.5± 4.73	29± 3.64	31.5± 5.46	39± 6.49	33.5± 7

Tabla 8. Latencia promedio de los episodios de escalada (s)

Latencia promedio de los episodios de nado (s)							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	25.14± 13.65	7.42± 3.39	22.14± 9.91	27.14± 16.12	45± 15.43	41.57± 12.53	30.28± 19.02
DEP	23.62± 7.77	4.37± 2.48	7.25± 3.64	15.37± 7.64	45.87± 16.11	26.87± 6.38	46.75± 18.82
DEP+VH	16.5± 6.25	7± 2.59	15.25± 7.25	35.87± 18.11	45.87± 14.00	22.25± 8.53	17.25± 7.13
DEP+EXTR	8.12± 3.88	15.12± 10.45	17.75± 7.59	48.75± 19.57	71.87± 26.24	36± 17.02	35.75± 13.13
DEP+SERT	5.12± 3.13	3.75± 1.54	22.42± 7.76	44.5± 10.05	54.12± 22.86	60.87± 24.57	64.5± 28.35

Tabla 9. Latencia promedio de los episodios de nado (s)

Promedio de heces							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	7.28±0.80	3.42±0.61	1.85±0.28	2.71±0.90	4.85±0.43	3±0.88	5.57±0.90
DEP	6.5±1.61	3±0.78	2.62±0.53	2.25±0.48	2.25±0.74	1.87±0.51	2.87±0.58
DEP+VH	3.62±0.49	3±1.03	2.25±0.74	2±0.49	2.25±0.72	2±0.69	2.75±0.92
DEP+EXTR	4.37±0.78	2.75±0.85	2.87±0.65	2.5±0.75	3.25±0.85	1.75±0.77	1.25±0.44
DEP+SERT	3.75±0.69	4.37±1.27	3.87±0.42	2±0.49	2.75±0.33	2±0.57	2.62±0.19

Tabla 10. Promedio de heces durante la PNF

Pesos promedio							
	DPN 39	DPN 60	DPN 67	DPN 82	DPN97	DPN 112	DPN 127
TA	146.85± 0.49	217± 0.66	331.53± 7.95	314.39± 27.39	392.85± 11.98	402.57± 10.88	431.42± 9.18
DEP	147.16± 10.56	268.87± 15.17	306.87± 14.52	328.37± 17.82	370.25± 14.58	371.75± 19.27	407.62± 11.27
DEP+VH	117.24± 10.38	232.25± 21.19	269.87± 16.55	303.5± 21.32	327.5± 19.45	361.62± 18.22	365.5± 19.26
DEP+EXTR	147.91± 8.72	261.06± 7.00	321.16± 15.26	349.75± 17.46	383.72± 17.13	404.625± 14.06	410.37± 13.36
DEP+SERT	131.93± 9.55	242.75± 19.24	297.62± 18.92	351.87± 16.36	388.37± 16.92	411.16± 16.63	433.75± 14.00

Tabla 11. Pesos promedio durante la PNF

Preferencia a la sacarosa (%)		
Grupo	Pre-tratamiento	Post-tratamiento
TA	0.94±0.01	0.96±0.007
DEP	0.69±0.04	0.89±0.01
DEP+VH	0.71±0.05	0.69±0.07
DEP+EXTR	0.80±0.02	0.89±0.01
DEP+SERT	0.66±0.04	0.86±0.02

Tabla 12. Preferencia a la sacarosa (%)

Anexo 3. Resultados de las pruebas estadísticas y significancia correspondientes a la conducta, latencia, número de heces, peso y preferencia a la sacarosa.

Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de inmovilidad									
DPN 39 $\chi^2=19.80, p<0.001^{***}$					DPN 60 $\chi^2=23.32, p<0.001^{***}$				
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH		DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH
DEP+ EXTR	p=0.14	--	--	--	DEP+ EXTR	p=0.01*	--	--	--
DEP+ SERT	p=0.37	p=0.21	--	--	DEP+ SERT	p=0.02*	p=0.23	--	--
DEP+ VH	p=0.18	p=0.40	p=0.27	--	DEP+ VH	p=0.43	p<0.01**	p=0.02*	--
TA	p<0.001***	p=0.01*	p<0.001***	p<0.01**	TA	p<0.001***	p=0.27	p=0.08	p<0.001***
DPN 67 $\chi^2=23.32, p<0.001^{***}$					DPN 82 $\chi^2=24.65, p<0.001^{***}$				
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH		DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH
DEP+ EXTR	p<0.01**	--	--	--	DEP+ EXTR	p<0.01**	--	--	--
DEP+ SERT	p=0.02*	p=0.23	--	--	DEP+ SERT	p=0.49	p<0.01**	--	--
DEP+ VH	p=0.43	p<0.01**	p=0.02*	--	DEP+ VH	p=0.54	p<0.01**	p=0.49	--
TA	p<0.001***	p=0.27	p=0.08	p<0.001***	TA	p=0.001***	p=0.22	p<0.001***	p<0.001***
DPN 97 $\chi^2=22.68, p<0.001^{***}$					DPN 112 $\chi^2=24.89, p<0.001^{***}$				
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH		DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH
DEP+ EXTR	p<0.0**	--	--	--	DEP+ EXTR	p<0.001***	--	--	--
DEP+ SERT	p=0.36	p=0.01*	--	--	DEP+ SERT	p=0.10	p=0.03*	--	--
DEP+ VH	p=0.36	p<0.01**	p=0.30	--	DEP+ VH	p=0.28	p<0.01**	p=0.23	--
TA	p<0.01**	p=0.34	p<0.01**	p<0.01**	TA	p<0.001***	p=0.27	p<0.01**	p<0.01**
DPN 127 $\chi^2=24.39, p<0.001^{***}$									
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH					
DEP+ EXTR	p<0.01**	--	--	--					
DEP+ SERT	p=0.19	p=0.03*	--	--					
DEP+ VH	p=0.47	p<0.01**	p=0.20	--					
TA	p<0.001***	p=0.23	p<0.01**	p<0.001***					

Tabla 13. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de inmovilidad

Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de escalada									
DPN 39 $\chi^2=5.20, p=0.27$					DPN 60 $\chi^2=12.03, p=0.02^*$				
	DEP	DEP+EX TR	DEP+SE RT	DEP+V H		DEP	DEP+EX TR	DEP+SE RT	DEP+V H
DEP+EX TR	p=0.26	--	--	--	DEP+EX TR	p=0.32	--	--	--
DEP+SE RT	p=0.31	p=0.33	--	--	DEP+SE RT	p=0.01*	p=0.05	--	--
DEP+VH	p=0.37	p=0.37	p=0.35	--	DEP+VH	p=0.47	p=0.30	p<0.01*	--
TA	p=0.18	p=0.32	p=0.26	p=0.27	TA	p=0.44	p=0.40	p=0.02*	p=0.42
DPN 67 $\chi^2=12.03, p=0.02^*$					DPN 82 $\chi^2=5.62, p=0.23$				
	DEP	DEP+EX TR	DEP+SE RT	DEP+V H		DEP	DEP+EX TR	DEP+SE RT	DEP+V H
DEP+EX TR	p=0.32	--	--	--	DEP+EX TR	p=0.46	--	--	--
DEP+SE RT	p=0.01*	p=0.05	--	--	DEP+SE RT	p=0.45	p=0.47	--	--
DEP+VH	p=0.47	p=0.30	p<0.01*	--	DEP+VH	p=0.15	p=0.18	p=0.17	--
TA	p=0.44	p=0.40	p=0.02*	p=0.42	TA	p=0.49	p=0.46	p=0.45	p=0.15
DPN 97 $\chi^2=9.00, p=0.06$					DPN 112 $\chi^2=5.17, p=0.27$				
	DEP	DEP+EX TR	DEP+SE RT	DEP+V H		DEP	DEP+EX TR	DEP+SE RT	DEP+V H
DEP+EX TR	p=0.21	--	--	--	DEP+EX TR	p=0.21	--	--	--
DEP+SE RT	p=0.29	p=0.34	--	--	DEP+SER T	p=0.27	p=0.44	--	--
DEP+VH	p=0.26	p=0.11	p=0.19	--	DEP+VH	p=0.41	p=0.19	p=0.34	--
TA	p=0.09	p=0.22	p=0.16	p=0.05	TA	p=0.32	p=0.35	p=0.36	p=0.33
DPN 127 $\chi^2=6.27, p=0.18$									
	DEP	DEP+EX TR	DEP+SE RT	DEP+V H					
DEP+EX TR	p=0.48	--	--	--					
DEP+SE RT	p=0.21	p=0.24	--	--					
DEP+VH	p=0.51	p=0.47	p=0.22	--					
TA	p=0.11	p=0.15	p=0.33	p=0.21					

Tabla 14. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de escalada escalada

Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de nado									
DPN 39 $X^2=3.53, p=0.47$					DPN 60 $X^2=12.91, p=0.01^*$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.37	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.11	--	--	--
DEP+SERT	p=0.40	p=0.44	--	--	DEP+SERT	p=0.25	p=0.04*	--	--
DEP+VH	p=0.38	p=0.39	p=0.59	--	DEP+VH	p=0.47	p=0.11	p=0.26	--
TA	p=0.42	p=0.39	p=0.45	p=0.36	TA	p=0.03*	p=0.23	p<0.01*	p=0.03*
DPN 67 $X^2=12.91, p=0.01^*$					DPN 82 $X^2=11.78, p=0.02^*$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.11	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.06	--	--	--
DEP+SERT	p=0.25	p=0.04*	--	--	DEP+SERT	p=0.47	p=0.05*	--	--
DEP+VH	p=0.47	p=0.11	p=0.26	--	DEP+VH	p=0.04*	p=0.57	p=0.05	--
TA	p=0.03*	p=0.23	p<0.01**	p=0.03*	TA	p=0.03*	p=0.52	p=0.04*	p=0.49
DPN 97 $X^2=3.03, p=0.55$					DPN 112 $X^2=7.90, p=0.09$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.39	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.24	--	--	--
DEP+SERT	p=0.38	p=0.40	--	--	DEP+SERT	p=0.32	p=0.16	--	--
DEP+VH	p=0.44	p=0.46	p=0.54	--	DEP+VH	p=0.33	p=0.36	p=0.28	--
TA	p=0.50	p=0.44	p=0.41	p=0.52	TA	p=0.09	p=0.24	p=0.05	p=0.15
DPN 127 $X^2=9.43, p=0.05^*$									
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH					
DEP+EXTR	p=0.03*	--	--	--					
DEP+SERT	p=0.46	p=0.03*	--	--					
DEP+VH	p=0.46	p=0.03*	p=0.44	--					
TA	p=0.29	p=0.18	p=0.26	p=0.31					

Tabla 15. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de los episodios de nado

Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de inmovilidad									
DPN 39 $X^2=19.20, p<0.001^{***}$					DPN 60 $X^2=8.04, p<0.09$				
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH		DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH
DEP+ EXTR	p=0.44	--	--	--	DEP+ EXTR	p=0.21	--	--	--
DEP+ SERT	p=0.20	p=0.25	--	--	DEP+ SERT	p=0.20	p=0.06	--	--
DEP+ VH	p=0.47	p=0.47	p=0.22	--	DEP+ VH	p=0.46	p=0.20	p=0.21	-
TA	p<0.001* **	p=0.001* **	p=0.01 *	p<0.001* **	TA	p= 0.26	p=0.38	p=0.05	p=0.22
DPN 67 $X^2=8.69, p=0.06$					DPN 82 $X^2=11.12, p=0.02^*$				
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH		DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH
DEP+ EXTR	p=0.15	--	--	--	DEP+ EXTR	p=0.03 *	--	--	--
DEP+ SERT	p=0.17	p=0.39	--	--	DEP+ SERT	p=0.15	p=0.17	--	--
DEP+ VH	p=0.46	p=0.17	p=0.17	--	DEP+ VH	p=0.13	p=0.24	p=0.38	--
TA	p=0.05	p=0.22	p=0.20	p=0.07	TA	p=0.01 *	p=0.27	p=0.11	p=0.12
DPN 97 $X^2=3.56, p=0.46$					DPN 112 $X^2=19.10, p<0.001^{***}$				
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH		DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH
DEP+ EXTR	p=0.31	--	--	--	DEP+ EXTR	p<0.01 **	-	--	--
DEP+ SERT	p=0.55	p=0.36	--	--	DEP+ SERT	p=0.18	p=0.01 *	--	--
DEP+ VH	p=0.61	p=0.43	p=0.5	--	DEP+ VH	p=0.06	p=0.05 *	p=0.29	--
TA	p= 0.63	p=0.30	p=0.32	p=0.43	TA	p<0.01 **	p=0.48	p=0.02 *	p=0.06
DPN 127 $X^2=8.90, p=0.06$									
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH					
DEP+ EXTR	p=0.09	--	--	--					
DEP+ SERT	p=0.47	p=0.07	--	--					
DEP+ VH	p=0.41	p=0.07	p=0.44	--					
TA	p=0.10	p=0.46	p=0.08	p=0.15					

Tabla 16. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de inmovilidad

Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de escalada									
DPN 39 X²=6.04, p=0.19					DPN 60 X²=6.04, p=0.19				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.28	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.43	--	--	--
DEP+SERT	p=0.42	p=0.36	--	--	DEP+SERT	p=0.39	p=0.49	--	--
DEP+VH	p=0.47	p=0.26	p=0.40	--	DEP+VH	p=0.47	p=0.44	p=0.42	--
TA	p=0.21	p=0.08	p=0.20	p=0.26	TA	p=0.12	p=0.14	p=0.19	p=0.11
DPN 67 X²=6.38, p=0.17					DPN 82 X²=6.01, p=0.19				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.26	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.19	--	--	--
DEP+SERT	p=0.11	p=0.27	--	--	DEP+SERT	p=0.10	p=0.49	--	--
DEP+VH	p=0.30	p=0.36	p=0.22	--	DEP+VH	p=0.16	p=0.48	p=0.42	--
TA	p=0.15	p=0.28	p=0.41	p=0.27	TA	p=0.14	p=0.49	p=0.43	p=0.44
DPN 97 X²=4.16, p=0.38					DPN 112 X²=5.58, p=0.23				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.46	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.22	--	--	--
DEP+SERT	p=0.35	p=0.60	--	--	DEP+SERT	p=0.34	p=0.26	--	--
DEP+VH	p=0.29	p=0.31	p=0.41	--	DEP+VH	p=0.21	p=0.37	p=0.36	--
TA	p=0.25	p=0.29	p=0.49	p=0.44	TA	p=0.20	p=0.37	p=0.23	p=0.33
DPN 127 X²=4.94, p=0.29									
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH					
DEP+EXTR	p=0.27	--	--	--					
DEP+SERT	p=0.34	p=0,30	--	--					
DEP+VH	p=0.37	p=0,24	p=0.48	--					
TA	p=0.29	p=0,43	p=0,31	p=0,28					

Tabla 17. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de escalada

Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de nado									
DPN 39 $X^2=5.48, p=0.24$					DPN 60 $X^2=1.97, p=0.74$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.22	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.55	--	--	--
DEP+SERT	p=0.16	p=0.32	--	--	DEP+SERT	p=0.80	p=0.49	--	--
DEP+VH	p=0.29	p=0.38	p=0.32	--	DEP+VH	p=0.54	p=0.51	p=0.58	--
TA	p=0.36	p=0.36	p=0.20	p=0.47	TA	p=0.98	p=0.45	p=0.41	p=0.60
DPN 67 $X^2=2.94, p=0.56$					DPN 82 $X^2=6.50, p=0.16$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.52	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.15	--	--	--
DEP+SERT	p=0.65	p=0.41	--	--	DEP+SERT	p=0.11	p=0.38	--	--
DEP+VH	p=0.44	p=0.44	p=0.45	--	DEP+VH	p=0.22	p=0.31	p=0.29	--
TA	p=0.46	p=0.39	p=0.43	p=0.47	TA	p=0.31	p=0.25	p=0.20	p=0.34
DPN 97 $X^2=1.17, p=0.88$					DPN 112 $X^2=2.54, p=0.64$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.66	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.49	--	--	--
DEP+SERT	p=0.68	p=1	--	--	DEP+SERT	p=0.45	p=0.62	--	--
DEP+VH	p=0.60	p=0.52	p=0.92	--	DEP+VH	p=0.40	p=0.41	p=0.94	--
TA	p=0.54	p=0.98	p=0.49	p=0.78	TA	p=0.39	p=0.50	p=0.49	p=0.52
DPN 127 $X^2=3.38, p=0.5$									
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH					
DEP+EXTR	p=0.47	--	--	--					
DEP+SERT	p=0.42	p=0.45	--	--					
DEP+VH	p=0.39	p=0.32	p=0.55	--					
TA	p=0.41	p=0.37	p=0.56	p=0.41					

Tabla 18. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas de la latencia de los episodios de nado

Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas del número de heces									
DPN 39 $X^2=11.62, p=0.02^*$					DPN 60 $X^2=9.70, p=0.04^*$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.24	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.43	--	--	--
DEP+SERT	p=0.12	p=0.31	--	--	DEP+SERT	p=0.17	p=0.14	--	--
DEP+VH	p=0.08	p=0.24	p=0.39	--	DEP+VH	p=0.28	p=0.29	p=0.05	--
TA	p=0.18	p=0.05	p=0.01*	p=0.01*	TA	p=0.14	p=0.15	p=0.01*	p=0.28
DPN 67 $X^2=9.70, p=0.04^*$					DPN 82 $X^2=0.85, p=0.93$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.43	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.52	--	--	--
DEP+SERT	p=0.17	p=0.14	--	--	DEP+SERT	p=0.59	p=0.94	--	--
DEP+VH	p=0.28	p=0.29	p=0.05	--	DEP+VH	p=0.52	p=0.73	p=0.49	--
TA	p=0.14	p=0.15	p=0.01*	p=0.28	TA	p=0.69	p=0.47	p=1	p=1
DPN 97 $X^2=9.86, p=0.04^*$					DPN 112 $X^2=2.15, p=0.71$				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.22	--	--	--	DEP+EXTR	p=0.49	--	--	--
DEP+SERT	p=0.36	p=0.36	--	--	DEP+SERT	p=0.50	p=0.52	--	--
DEP+VH	p=0.50	p=0.27	p=0.41	--	DEP+VH	p=0.46	p=0.53	p=0.48	--
TA	p=0.01*	p=0.12	p=0.03*	p=0.03*	TA	p=0.74	p=0.77	p=0.52	p=0.55
DPN 127 $X^2=16.35, p<0.01^*$									
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH		DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.06	--	--	--					
DEP+SERT	p=0.52	p=0.06	--	--					
DEP+VH	p=0.56	p=0.06	p=0.47	--					
TA	p=0.02*	p<0.001***	p=0.03*	p=0.04*					

Tabla 19. Resultados de las pruebas estadísticas y de significancia obtenidas del número de heces

Resultados de la Prueba F y de significancia obtenidas del peso				
	DEP	DEP+EXTR	DEP+SERT	DEP+VH
DEP+EXTR	p=0.40; F=0.97	--	--	--
DEP+SERT	p=0.04* ; F= 2.69	p=0.27; F=1.30	--	--
DEP+VH	p<0.01** ; F=5.06	p<0.001*** ; F=9.53	p<0.001*** ; F=9.27	--
TA	p=0.14; F=1.81	p=0.30; F=1.23	p=0.80; F=0.32	p<0.001*** ; F=7.37

Tabla 20. Resultados de la Prueba F y de significancia obtenidas del peso

Resultados de la prueba Kruskal-Wallis y Dunn, y de significancia obtenidas de los valores de preferencia de sacarosa									
Antes del tratamiento $\chi^2=26.77$; $p<0.001^{***}$					Después del tratamiento $\chi^2=9.30$, $p=0.05^*$				
	DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH		DEP	DEP+ EXTR	DEP+ SERT	DEP+ VH
DEP+ EXTR	p=0.15	--	--	--	DEP+ EXTR	p=0.28	--	--	--
DEP+ SERT	p=0.29	p=0.05*	--	--	DEP+ SERT	p=0.28	p=0.45	--	--
DEP+ VH	p=0.37	p=0.22	p=0.21	--	DEP+ VH	p=0.09	p=0.25	p=0.24	--
TA	p=0.001***	p<0.01**	p<0.001***	p<0.001***	TA	p=0.01**	p<0.01**	p<0.01**	p<0.001**

Tabla 21. Resultados de la prueba Kruskal-Wallis y Dunn, y de significancia obtenidas de los valores de preferencia de sacarosa